

**Beziehungen von Purin-
und Pyrimidinverbindungen
in Milch und Plasma
von Milchkühen**

Regina Roßkopf

Disbui. München

1989



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. D. Giesecke

Beziehungen von
Purin- und Pyrimidinverbindungen
in Milch und Plasma von Milchkühen

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwigs-Maximilians-Universität München

von
Regina Roßkopf
aus
Bertoldsheim

München, 1989

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Univ.-Prof. Dr. D. Giesecke

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr.h.c. G. Terplan

Tag der Promotion: 24. Februar 1989

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstr. 15, Tel. 288663

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS:

1.	EINLEITUNG	1
1.1.	Abbau und Verwertung der mit der Nahrung aufgenommenen Nucleinsäuren im Pansen	2
1.2.	Resorption der Pyrimidin- und Purinverbindungen aus dem Dünndarm	6
1.3.	Weitere Verwertung der Purin- und Pyrimidinverbindungen nach der Absorption aus dem Dünndarm	8
1.4.	Berechnung der durchschnittlichen Aufnahme von Nucleosiden und Basen aus dem Dünndarm	10
1.5.	Problemstellung	13
2.	MATERIAL UND METHODEN	15
2.1.	Tiermaterial, Haltung und Fütterung	15
2.2.	Milchleistung, Protein- und Fettgehalt	16
2.3.	Probengewinnung und -aufbereitung	18
2.3.1.	Vorbereitung der Milchproben	18
2.3.2.	Vorbereitung der Plasmaproben	19
2.4.	Analytische Methoden	21
2.4.1.	Analysenbedingungen	21
2.4.2.	Präzision und Wiederfindung	26
2.5.	Statistische Methoden	27
3.	ERGEBNISSE	28
3.1.	Pyrimidinverbindungen	28
3.1.1.	Orotsäure	28
3.1.2.	Uridin	32
3.1.3.	Cytidin	38
3.1.4.	Pseudouridin	46
3.2.	Purinverbindungen	53
3.2.1.	Hypoxanthin	53
3.2.2.	Harnsäure	57
3.2.3.	Allantoin	62

3.3.	Vergleich der Gesamtpyrimidine und -purine	69
3.4.	Andere Verbindungen	71
3.4.1.	Kreatinin	71
3.4.2.	Hippursäure	76
4.	DISKUSSION	79
5.	ZUSAMMENFASSUNG	89
6.	SUMMARY	91
7.	LITERATURVERZEICHNIS	93

1. Einleitung

Der mikrobiellen Verdauung im Pansen wurde schon immer größte Beachtung zuteil. Sie ermöglicht es den Wiederkäuern in mancher Beziehung von der Nährstoffversorgung unabhängiger zu werden, da die Mikroorganismen das Wirtstier mit wichtigen Nährstoffen versorgen, wie es für eine Symbiose typisch ist.

So wäre ohne die Pansenflora und -fauna zum Beispiel keine Celluloseverdauung möglich. Außerdem synthetisieren die Mikroorganismen alle wasserlöslichen Vitamine (Menke, 1973).

Die wohl wichtigste Funktion der Pansenmikroorganismen aber ist die Synthese von essentiellen und nicht essentiellen Aminosäuren, Peptiden und Proteinen.

Speziell die Fähigkeit hochwertiges Protein aufzubauen erweckte seit langem großes Interesse, und man versuchte verschiedene Methoden zur Erfassung der mikrobiellen Eiweißsynthese zu entwickeln. Unter anderem fanden deshalb die Nucleinsäuren große Beachtung.

Die Grundlage dafür bildet der Umstand, daß Nucleinsäuren einerseits in Form der Desoxyribonucleinsäuren in allen Zellen als Informationsträger fungieren. Andererseits stellen die verschiedenen Formen der Ribonucleinsäuren - messenger-RNA (mRNA), ribosomale-RNA (rRNA), transfer-RNA (tRNA) - ein System dar, das die genetische Information in eine Aminosäuresequenz übersetzen kann und damit die Proteinbiosynthese erst ermöglicht.

Der Anteil der drei RNA-Komponenten am Gesamt-RNA-Gehalt der Zelle ist unterschiedlich. Grundsätzlich stellt die rRNA mit rund 80% - 90% den Hauptanteil, an zweiter Stelle folgt die tRNA. Auf die mRNA entfällt nur ein geringer Anteil (Nierlich, 1978).

1.1. Abbau und Verwertung der mit der Nahrung aufgenommenen Nucleinsäuren im Pansen

Ribonucleinsäuren (RNA) und Desoxyribonucleinsäuren (DNA) und deren Abbauprodukte werden je nach Art des Futtermittels in unterschiedlichen Mengen aufgenommen (McAllan, 1982). In Tabelle 1 sind Angaben zu mehreren in der Wiederkäuerfütterung häufig verwendeten Futtermitteln zusammengefaßt.

Das Schicksal der aufgenommenen RNA- und DNA - Moleküle ist durch umfassende und nahezu vollständige Abbauvorgänge bestimmt. Ein Unterschied, der sich im Verlauf des Abbaus zeigt, ist nach Angaben von McAllan und Smith (1973) die längere Dauer des DNA-Abbaus (über vier Stunden) im Vergleich zum RNA-Abbau (eine Stunde). An erster Stelle des Abbauvorgangs steht bei beiden Verbindungen die Zerlegung in kleinere Einheiten. Die daran beteiligten Enzyme sind extrazelluläre Endonucleasen, die vermutlich mikrobieller Herkunft sind (McAllan u. Smith, 1973). Die weitere Zerlegung der Oligonucleotide erfolgt durch Exonucleasen.

Für auf diesem Weg entstandene Pyrimidinverbindungen erfolgt durch Dephosphorylierung und anschließende Abspaltung des Zuckeranteils die Umwandlung in die entsprechende Base. Eine Ausnahme macht das Cytidin, das auf Grund seiner Aminogruppe erst zu Uracil deaminiert werden muß.

Diesem komplizierteren Abbauweg unterliegen auch die Purinverbindungen mit stickstoffhaltigen Seitenketten Adenosin und Guanosin. Erstere wird auf der Stufe der Nucleoside, letztere erst als Base deaminiert. Am Ende entstehen Hypoxanthin bzw. Xanthin.

Tab. 1: Nucleinsäuregehalt verschiedener Futtermittel (nach Smith u. McAllan, 1970)

Futtermittel	RNA-Gehalt g / kg TS*	DNA-Gehalt g / kg TS*
Heu	1.07	0.41
Stroh	0.86	0.09
Mais-silage	0.28	0.06
Erdnuß-extraktions-schrot	1.02	0.06
Fisch-mehl	0.67	0.42
Weide-grass	1.06	0.56

* Trockensubstanz

Die Enzyme für diesen Teil des Abbaus wurden in verschiedenen Bakterien nachgewiesen (McAllan u. Smith, 1973). Detailliertere Kenntnisse liegen aber noch nicht vor (McAllan, 1982).

Ein geringer Prozentsatz der Endprodukte wird im Zuge der Ingestapassage in den unteren Verdauungstrakt weiterbefördert. Von dem im Pansen verbliebenen Anteil werden der freigesetzte Zucker - Ribose bzw. Desoxyribose - und die Kohlenstoffgerüste der Basen vermutlich schnell abgebaut und für Neusynthesen verwendet. Da dem Stickstoff, der einen der limitierenden Faktoren der mikrobiellen Eiweißsynthese darstellt, im Wiederkäuerorganismus eine besonders wichtige Rolle zukommt,

wird der in den Basen enthaltene Stickstoff sicherlich nahezu vollständig wiederverwertet. Der direkte Einbau von Basen spielt bei den Pansenbakterien eine untergeordnete Rolle, so daß die mikrobiellen Nucleinsäuren hauptsächlich aus de-novo Synthese stammen (McAllan, 1982).

Die Pansenprotozoen sind dagegen wahrscheinlich nicht dazu in der Lage Purin- bzw. Pyrimidinbasen zu synthetisieren. Sie decken ihren Bedarf über die Verwertung von Pansenbakterien (Coleman, 1974; Steinhour u. Clark, 1982).

Die Pansenmikroorganismen setzen sich aus ca. 10^9 bis 10^{10} Bakterien und ca. 10^5 Protozoen pro Milliliter Pansenflüssigkeit zusammen (Bergen et al., 1982). Sie produzieren eine beachtliche Menge an Nucleinsäuren (Ellis u. Pfander, 1965) über deren Gesamthöhe unterschiedliche Vorstellungen existieren.

Topps und Elliot (1965) gaben den Gesamtgehalt des Pansens an Nucleinsäuren mit 50 mg/100 ml Pansenflüssigkeit an. Smith, McAllan und Hill (1968) fanden dagegen bis zu 250 mg/100 ml.

Der Anteil der Nucleinsäuren am Gesamtstickstoffgehalt im Pansen wird mit 14% - 18% angegeben (Schelling et al., 1982). Davon entfallen rund 70% auf Ribonucleinsäuren.

Der Anteil der Nucleinsäuren wird stark durch das Wachstum der Mikroorganismen beeinflusst; hauptsächlich ist davon der Ribonucleinsäuregehalt betroffen.

Nach Bergen et al. (1982) ist das RNA / Proteinverhältnis bei Bakterien mit hoher Wachstumsrate enger als bei langsam wachsenden Bakterien. Die Wachstumsrate der Bakterien ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Eine wichtige Rolle spielt dabei die Zusammensetzung des Futters, da für den Aufbau von bakteriellern Eiweiß ne-

ben Stickstoff vor allem auch Energie und Kohlenstoffgerüste bereitgestellt werden müssen (McAllan et al., 1986). Bates und Bergen (1984) fanden durch Fütterungsversuche heraus, daß zum Beispiel glucose-limitierte Diäten einen relativ geringen RNA-Anteil zur Folge hatten.

Die Bereitstellung von genügend Energie ist wegen der anaeroben und damit weniger effektiven Energiegewinnung im Pansen besonders wichtig (Armstrong et al., 1974; Demeyer et al., 1986; McAllan et al., 1986). Andererseits besteht auch eine Abhängigkeit vom physikalischen Zustand der Nahrung, die sich darin äußert, daß kleinere Partikelgrößen des Futters schneller durch den Pansen geschleußt und damit dem mikrobiellen Abbau entzogen werden.

Für die Protozoenfraktion ergibt sich ein anderes Bild. Grundsätzlich ist ihre Wachstumsrate (Leng et al., 1981) und damit auch das RNA/Proteinverhältnis relativ niedrig. Der Anteil der Protozoen an den Gesamtmikroorganismen im Pansen kann also den Nucleinsäuregehalt beeinflussen. Er wird durch die Art und Qualität des Futters mitbestimmt (Tarakanow et al., 1984). Unter günstigen Bedingungen können bis zu 20% des von Mikroorganismen umgesetzten Stickstoffs in Protozoenbiomasse umgewandelt werden (Ushida et al., 1984).

Insgesamt werden 50% - 80% des Nahrungsstickstoffs in mikrobielle Stickstoffverbindungen umgesetzt. Ein Fünftel davon geht in die Produktion von Nucleinsäuren (Smith u. McAllan, 1970).

1.2. Resorption der Pyrimidin- und Purinverbindungen aus dem Dünndarm

Die mittlere Dauer des Transports der Ingesta vom Pansen in das Duodenum beträgt abhängig vom physikalischen Zustand und der chemischen Zusammensetzung etwa 1.5 Stunden (Smith u. McAllan, 1971).

Auf dem Weg zwischen Pansen und Duodenum findet vermutlich keine Resorption statt (Jackson et al., 1975).

Die Stickstoffverbindungen des Duodenalinhaltes stammen aus drei Quellen (Armstrong u. Hutton; 1974; McAllan, 1982):

- nicht abgebaute Nahrungsbestandteile
- endogener Stickstoff, der in den Labmagen sezerniert wurde oder in Form von Zellabrieb vorliegt
- Produkte mikrobieller Synthese (ca. 85%)

Die Pansenmikroorganismen werden mit den Nahrungsbestandteilen weiterbefördert. Sie sind entweder in der flüssigen Phase verteilt oder haften an Nahrungspartikeln (Ushida et al., 1986).

Der Nucleinsäuregehalt im Duodenalinhalt liegt nach Coelho da Silva et al. (1972) um den Faktor 2.5 - 3.5 höher als im aufgenommenen Futter. Der Nucleinsäurestickstoff beträgt etwa 12% - 18% des Gesamtstickstoffgehaltes (McAllan u. Smith, 1972)

Vor der Resorption aus dem Darmlumen finden eine Reihe von Abbauvorgängen statt, an deren Ende Nucleoside und die entsprechenden Purin- bzw. Pyrimidinbasen stehen. Die beteiligten Enzyme wurden zum Teil im Darmlumen (Pankreasribonuclease EC 3.1.4.22; Desoxyribonuclease EC 3.1.4.5; Phosphodiesterasen EC 3.1.4.1 u. EC 3.1.4.18), zum Teil im Darmgewebe (5'-Nucleotidase EC

3.1.3.5; Adenosindeaminase EC 3.5.4.4; vermutlich Cytidineaminase EC 3.5.4.5 und Xanthinoxidase EC 1.2.3.2) nachgewiesen (Barnard, 1969; Armstrong et al., 1974; McAllan, 1980).

Durch Infusion von Nucleinsäuren in das Duodenum wurde festgestellt, daß die Abbaurate mit 97% fast vollständig ist (McAllan, 1980). Ähnliche Ergebnisse erhielten auch Condon und Hatfield (1970a), Smith u. McAllan (1971), Coelho da Silva et al. (1972).

Als Resorptionsmechanismen geben Scharrer et al. (1981) und Bronk et al. (1987) an, daß es sich entsprechend den Versuchsergebnissen, die an Dünndarmteilen von Lämmern und Ratten erzielt wurden, vermutlich um Natrium-abhängige aktive Transportvorgänge handelt. Speziell für Harnsäure wurde von Bronk und Shaw (1986) an Mäusedünndärmen ein Transport entgegen einem Konzentrationsgefälle nachgewiesen. Wohingegen Dukes et al. (1982) keine Anhaltspunkte für aktive Transportmechanismen fanden.

Die mittlere Resorptionsrate liegt bei 82% (McAllan, 1982). Verschiedene Purin- und Pyrimidinabbauprodukte werden nicht vollständig resorbiert - Xanthin 95%, Hypoxanthin 51%, Cytosin 48%, Thymin 80%, verschiedene Nucleoside 50% - und unterliegen somit dem Weitertransport in den Dickdarm (McAllan, 1980).

Dieser stellt eine weitere wichtige Station der Ingestapassage dar, da in ihm ähnliche Verhältnisse vorliegen wie im Pansen (Ulyatt et al., 1974; Kijora et al.; 1986). Allerdings ist das Substratangebot doch schon stark reduziert, so daß der mikrobiellen Produktion keine so große Bedeutung mehr zukommt.

1.3. Weitere Verwertung der Purin- und Pyrimidinverbindungen nach der Absorption aus dem Dünndarm

Die aus dem Darmlumen resorbierten Purine und Pyrimidine werden über die Blutbahn weitertransportiert. Die weitere Verwertung geht unterschiedliche Wege.

Zum Teil werden die Purin- und Pyrimidinverbindungen für den Aufbau körpereigener Nucleinsäuren verwendet, wie Versuche mit ^{14}C -markierten Purinverbindungen zeigten (Condon et al., 1970a; Razzaque et al., 1981). Der größere Teil der absorbierten Substanzen wird weiter abgebaut und schließlich ausgeschieden.

Als Ausscheidungsprodukte kommen für die Purinverbindungen vor allem Allantoin und Harnsäure in Frage. Der Stickstoff, der in den Pyrimidinverbindungen enthalten ist, wird endogen wiederverwertet (Armstrong u. Hutton, 1974) oder kann schließlich bei vollständigem Abbau als Harnstoff in das Stickstoffrecycling des Wiederkäuerorganismus einfließen (McAllan, 1982; McLean et al., 1984; Demeyer et al., 1986). Die Abbildung 2 zeigt eine Zusammenfassung der im Wiederkäuerorganismus ablaufenden Vorgänge von der Nahrungsaufnahme bis zur Ausscheidung.

Als Ausscheidungsorgan steht bei allen Tieren die Niere im Vordergrund. Bei laktierenden Tieren werden auch über die Milchdrüse nennenswerte Mengen an Purin- und Pyrimidinverbindungen ausgeschieden (Stohrer, 1987).

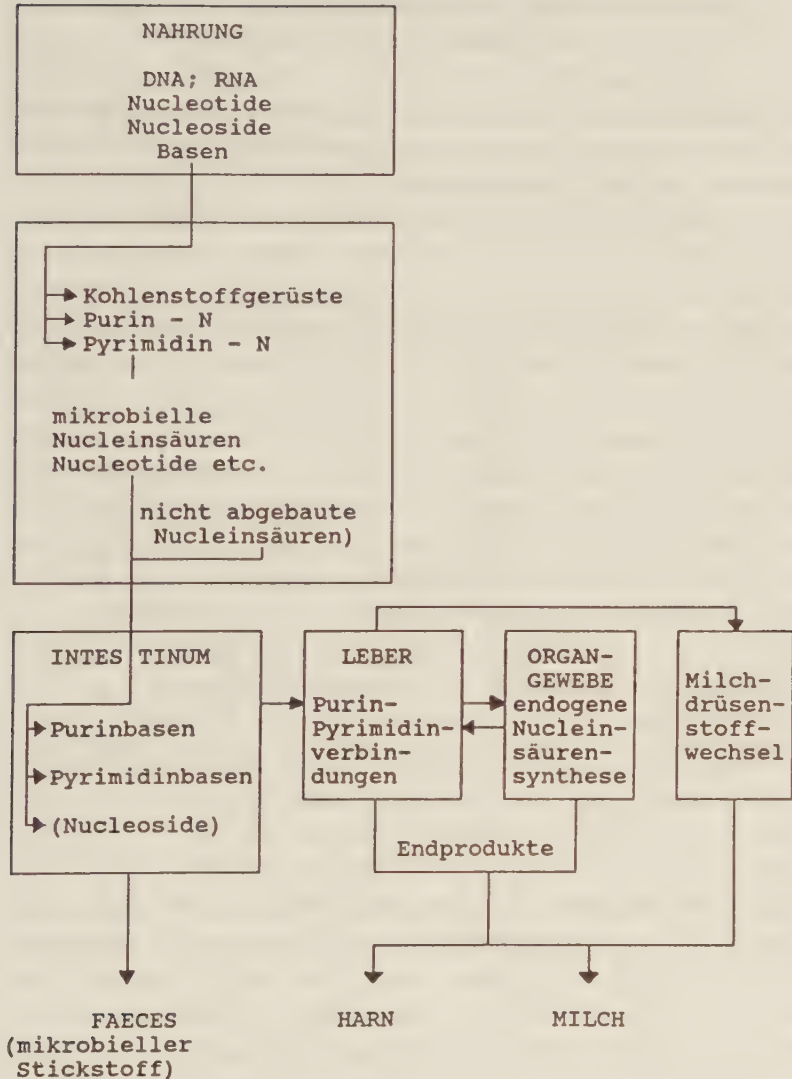


Abb. 1: Verwertung der Purin- und Pyrimidinverbindungen im Wiederkäuerorganismus

1.4. Berechnung der durchschnittlichen Aufnahme von Nucleosiden und Basen aus dem Dünndarm

Von verschiedenen Untersuchern wurden Modelle erarbeitet um die Menge an mikrobieller Biomasse, die in den Dünndarm gelangt, zu bewerten.

In vielen Fällen wird dabei der Nicht-Ammoniak-Stickstoff (NAN) des Duodenalinhalts erfaßt. Für die Berechnung macht man sich den Umstand zu Nutzen, daß die mikrobielle Proteinsynthese stark von der aufgenommenen Energie abhängig ist (vgl. S.5). Die von den verschiedenen Untersuchern entwickelten Modelle unterscheiden sich hauptsächlich darin, auf welche Art der Energiebewertung Bezug genommen wird z.B. Nettoenergie-Laktation (NEL), Umsetzbare Energie (ME), Verdauliche Organische Substanz (DOM). Zum Teil wird auch noch die über das Futter aufgenommene Stickstoffmenge - feed N (FN) - mitberücksichtigt (Rohr u. Lebzien, 1986a).

Rohr et al. (1986b) stellten eine Berechnung vor, die als Grundlage die Umsetzbare Energie verwendet.

Aus der Formel, die weiter unten dargestellt ist, berechnet sich die Menge an NAN (g/d), welche täglich im Duodenum anflutet. Die erforderliche Umsetzbare Energie erhält man, soweit sie nicht angegeben ist, durch Umrechnung der Netto-Energie-Laktation (NEL).

Ausgehend vom NAN kann man den Gesamtstickstoffgehalt (Gesamt-N) des Duodenalinhaltes berechnen, indem man die Berechnung zu Grunde legt, daß der NAN-Anteil am Gesamt-N etwa 96% beträgt (Rohr et al., 1986b).

Nach den Ergebnissen von McAllan und Smith (1972) kann man den mittleren Anteil des Nucleinsäuren-N (NS-N) am Gesamt-N mit 12% - 18% veranschlagen. Aus der Nucleinsäurenverdaulichkeit von 97% (McAllan, 1980) und dem N-Gehalt der Purin- und Pyrimidinverbindungen von 41% bzw. 26% kann die Gesamtmasse der Purine und Pyrimidine berechnet werden. Als Purinanteil am Gesamtge-

halt können 66% veranschlagt werden (Laurent u. Vignon, 1983).

Für die Resorptionsrate wurde ein mittlerer Wert von 82% zu Grunde gelegt (vgl. S.7). Am Ende erhält man die vermutliche Menge an Purin- und Pyrimidinbasen, die aus dem Verdauungsapparat zu erwarten ist.

Tabelle 2: Berechnete Purin- und Pyrimidinmenge, die aus dem Dünndarm resorbiert wird

Erhaltungs- bedarf plus	NAN g/d	Pyrimidin- basen g/d	Purin- basen g/d
10kg Milch	236.37	38.53	47.27
15kg Milch	302.10	49.24	60.42
20kg Milch	367.84	59.96	73.57
25kg Milch	433.58	70.67	86.72
30kg Milch	499.31	81.39	99.86
35kg Milch	565.05	92.10	113.01
40kg Milch	630.78	102.82	126.16

Berechnung der Nucleinsäurenmenge, die vermutlich aus dem Dünndarm resorbiert wird (nach Rohr et al., 1986b):

Purinbasen (g/d) = g NAN/d x 0.20

Pyrimidinbasen (g/d) = g NAN/d x 0.163

Annahmen:

- NAN (g/d) = $2.49 \times \text{kJ ME} - 33.3$
- NAN (g/d) = 96% Gesamt-N
- NS-N (g/d) = 15% Gesamt-N
- Abbaurrate = 97%
- NS-abbauprodukte werden als Basen resorbiert
- Anteil der Purine = 66%
- N-Anteil Purine = 41%
- N-Anteil Pyrimidine = 26%
- mittlere Resorptionsrate = 82%

Bedarfszahlen nach DLG-Futterwerttabellen:

Erhaltungsbedarf für eine Kuh mit 550kg KGW:

33.3 MJ NEL bzw. 55.5 MJ ME

zusätzlicher Energiebedarf pro kg Milch:

3.17 MJ NEL bzw. 5.28 MJ ME

1.5. Problemstellung

Wie von mehreren Untersuchern festgestellt wurde, sind Nucleinsäuren und ihre Abbauprodukte eng mit der mikrobiellen Eiweißsynthese verbunden (Topps et al., 1965 u. 1967; Smith, 1969; Condon et al., 1970a u. b; Kaplan et al., 1974; Roth et al., 1978; König et al., 1980; Prigge et al., 1980; Turchinskij, 1981; Bates et al., 1984).

Bates et al. (1984) untersuchten das RNA/Proteinverhältnis unter verschiedenen Bedingungen und kamen zu dem Schluß, daß das Nährstoffangebot das Verhältnis stark beeinflußt.

Schelling et al. (1984) erforschten spezielle Purin- bzw. Pyrimidinbasen und fanden auch bei wechselnden Bedingungen konstant hohe Korrelationen für Cytosin mit mikrobiellem Stickstoff.

Besonderes Interesse fand die Ausscheidung von Stoffwechselprodukten über den Harn. Hier galt vor allem dem Purinabbauprodukt Allantoin das Interesse, da es als Hauptendprodukt des Purinstoffwechsels in größeren Mengen vorliegt und Aussagen über die bei der Eiweißsynthese anfallenden Nucleinsäuren erlaubt (Topps et al., 1965 u. 1967; Vercoe, 1976; Roth et al., 1978; Kirchgessner et al., 1985; Antoniewicz et al., 1980 u. 1983; Bickel-Baumann et al., 1986; Fujihara et al., 1987).

Die Entwicklung neuer verfeinerter Analysentechniken ermöglichte den zuverlässigen quantitativen Nachweis von Purin- bzw. Pyrimidinabbauprodukten, der bislang nicht möglich war. Insbesondere die Hochdruckflüssigchromatographie erwies sich als ein gut geeignetes Nachweisverfahren (Giesecke et al., 1984; Schelling et al., 1984). Damit war es möglich neben Allantoin auch andere Parameter zu untersuchen (Giesecke et al., 1984).

Nachdem von Laurent et al. (1983) vermutet wurde, daß auch über die Milch Allantoin ausgeschieden wird, schlossen sich in der nachfolgenden Zeit ein Reihe von Untersuchungen an (Tiemeyer et al., 1984; Stohrer, 1987).

Im Vergleich zu den herkömmlichen Methoden der Bestimmung der Purin- und Pyrimidinverbindungen bzw. deren Abbauprodukte im Harn hat die Analyse von Milchproben verschiedene Vorteile. Sie liegen vor allem darin, daß die quantitative Gewinnung von Milchproben beim Rind wesentlich leichter ist, als die Gewinnung von Urinproben.

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, welche Purin- bzw. Pyrimidinverbindungen, die im Blutplasma und in der Milch vorkommen, sich eventuell als Kriterium für die mikrobielle Eiweißsynthese im Pansen verwenden lassen.

Über den Vergleich der Werte sollten sich eventuell auch Aussagen treffen lassen, welche Verbindungen über den Blutweg in die Milchdrüse gelangen bzw. in der Milchdrüse entstehen. Als Vertreter der Pyrimidine wurden Orotsäure, Uridin, Cytidin und Pseudouridin gemessen. Auf der Seite der Purinverbindungen galt das Interesse Hypoxanthin, Harnsäure und Allantoin. Die Bestimmung aller Verbindungen erfolgte mit Hilfe der Hochdruckflüssigchromatographie.

Die Ergebnisse werden abschließend mit der berechneten Aufnahme der Purine und Pyrimidine aus dem Dünndarm verglichen.

2. Material und Methoden

2.1. Tiermaterial, Haltung und Fütterung

Alle Untersuchungen wurden an Kalbinnen der Rassen Deutsches Fleckvieh und Holstein Friesian durchgeführt. Die Tiere wurden gemeinsam in einem planbefestigten Laufstall mit eingestreuter Liegefläche und Auslauf auf dem Lehr- und Versuchsgut der Ludwig-Maximilians-Universität in Oberschleißheim gehalten.

Das Futter setzte sich wie folgt zusammen:

o Grundfütterration:

- 3 kg Heu
- 16 kg Maissilage
- 4 kg Grassilage

o Ausgleichsfutter über 10 kg Milch 2 kg pro Tag

- 38,47 % Sojaextraktionsschrot
- 42,73 % Haferschrot
- 12,82 % Weizenschrot
- 4,27 % Mineralstoffmischung
- 1,71 % Kochsalz

o Leistungsfutter über 15 kg Milch (1 kg Futter entspricht 2.2 kg Milch):

- 35,00 % Haferschrot
- 30,00 % Gerstenschrot
- 15,00 % Weizenschrot
- 10,00 % Sojaextraktionsschrot
- 7,00 % Leinsaatmehl
- 3,00 % Mineralstoffmischung

Der Energiegehalt der Ration wurde entsprechend der DLG-Futterwerttabellen berechnet und bewertet. Danach waren in der Grundfütterration 52 MJ Nettoenergie-laktation (NEL) enthalten.

Veranschlagt man als Erhaltungsbedarf einen Wert von 33 MJ NEL bei einem Durchschnittsgewicht von 550 kg Körpergewicht so konnten über die Grundfütterration 6-7 kg Milch produziert werden, wenn man voraussetzt, daß pro Kilogramm Milch 3 MJ benötigt werden. Damit war die

Grundfutterrationsration etwas knapp bemessen, denn sie sollte eigentlich den Erhaltungsbedarf plus den Bedarf für 10 kg Milch decken. Das Ausgleichsfutter beinhaltete 7,5 MJ pro Kilogramm. Dieser Betrag konnte die Spanne zwischen 10 und 15 kg Milch gut ausfüllen. Das Leistungsfutter mit 6.8 MJ pro Kilogramm war ebenfalls den Anforderungen entsprechend bemessen.

2.2. Milchleistung, Protein- und Fettgehalt

Bei den Versuchstieren handelte es sich ausschließlich um Kalbinnen. Die Milchleistung wurde im Rahmen der monatlich stattfindenden Milchleistungsprüfungen erfaßt. Für die Berechnung der Ergebnisse wurde derjenige Wert herangezogen, der während der Versuchsperiode erfaßt worden war (vgl. Tabelle 3).

Für die Milchleistung konnte ein signifikanter Unterschied ($p < 0.01$) zwischen den Holstein-Friesian und den Deutsch-Fleckvieh-Kühen festgestellt werden.

Der Proteingehalt der Milch war bei den Deutsch-Fleckvieh-Kühen signifikant ($p < 0.001$) höher als bei den Holstein-Friesian-Kühen.

Für den Fettgehalt der Milch konnte kein Unterschied zwischen den beiden Rassen gefunden werden.

Tabelle 3: Leistungsdaten der Versuchstiere

Nr.	Abkalbealter in Mo.	Milchleistung im Versuchszeitraum			Milchleistung	
		Milchleistung kg/d	Fett %	Prot. %	nach Versuchs- ende kg/d	100 Tage Leistung kg FCM
47*	26	16.80	3.73	3.20	16.80	1472
48	26	9.20	4.49	3.24	9.10	813
49	27	21.30	3.55	3.24	21.30	1855
50	27	23.00	3.67	3.02	16.80	1739
51	28	21.70	3.30	2.99	20.10	1735
52	28	16.70	4.02	3.19	7.50	--
209*	26	29.10	3.67	2.65	31.30	2803
210	25	24.60	3.83	2.87	22.40	2221
211	25	27.00	4.10	2.62	25.40	2621
212	23	26.20	4.53	2.60	27.80	2696
213	24	24.70	3.35	2.57	23.90	1993
214	27	3.60	--	--	5.40	--
215	24	22.70	4.25	2.98	25.80	2337
216	26	27.10	3.79	2.85	28.80	2695
217	27	20.70	3.81	2.80	21.30	1899
218	24	25.20	3.51	2.85	24.50	2236
219	25	26.20	3.32	2.72	28.10	2373
220	25	28.80	2.78	2.78	30.60	2717

* Zweistellige Zahlen stehen für Kühe der Rasse Deutsches-Fleckvieh; dreistellige Zahlen für Kühe der Rasse Holstein-Friesian

2.3. Probengewinnung und -aufbereitung

Mit der Probenentnahme wurde am 30.Tag post partum begonnen. Der Vorteil der Probenentnahme über einen relativ kurzen Zeitraum ab dem 30. Tag post partum lag darin, daß auf diesem Weg Einflüsse der Laktationskurve möglichst ausgeschaltet werden sollten. Die Blutproben wurden über einen Zeitraum von drei Wochen jeweils montags und donnerstags um 13⁰⁰ Uhr aus der Vena jugularis entnommen. Die Milchproben stammten aus dem Abendgemelk des entsprechenden Tages.

Insgesamt wurden pro Tier je 6 Blut- und Milchproben gewonnen.

2.3.1. Vorbereitung der Milchproben

Die Vollmilchproben wurden noch auf dem Versuchsgut in einer Kühlzentrifuge (Rotixa RP 4200, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen) 15 min bei 1100xg zur Abtrennung der Lipid- und Zellfraktionen zentrifugiert. Anschließend wurden die Proben auf Eis transportiert und bei -20° Celsius bis zur Analyse gelagert. Vor der Analyse wurden die Proben im Wasserbad bei 37° Celsius aufgetaut.

Um eine schnelle Kontamination der Chromatographie-säulen zu vermeiden, wurden die Proben mit Natriumlaurylsulfat bis zu einer Endkonzentration von ca. 0.1% vermischt, 15 min geschüttelt (Reax, Fa. Heidolph, Kehlheim), anschließend mit Chloroform im Verhältnis 1:1 vermischt und wieder 15 min geschüttelt. Danach wurden die Proben bei 30000xg für 30 min zentrifugiert (Spinco 50, Beckman, München; Ti-50 Rotor; Polyallomerzentrifugenröhrchen, Kontron, Eching). Der klare Überstand wurde zur Analyse verwendet.

2.3.2. Vorbereitung der Plasmaproben

Die heparinisierten Blutproben wurden an Ort und Stelle in einer Kühlzentrifuge (Rotixa RP 4200, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen) bei 1500xg 10 Minuten zentrifugiert.

Der klare Überstand wurde abpipettiert. Durch Zusatz einer 11.64 molaren Perchlorsäurelösung bis zu einer Endkonzentration von ca 0.05 mol/l wurde die Proteinfraction ausgefällt.

In diesem Zustand wurden die Proben in Eis gekühlt in das Labor transportiert.

Hier wurden sie bei 3000xg 20 Minuten in einer Tischzentrifuge (Sigma 3E, Sigma Laborzentrifugen, Osterrode am Harz) zentrifugiert. Anschließend wurde der klare Überstand abpipettiert und durch Zugabe von KOH (200 mg/l) auf einen pH-Wert von 6 eingestellt. Danach wurden die Proben 15 Minuten auf Eis gekühlt, abschließend bei 6000xg 10 Minuten zentrifugiert und die verbleibenden klaren Überstände bei -20° Celsius bis zur Analyse gelagert.

Vor der Analyse wurden die Proben im Wasserbad bei 37° Celsius aufgetaut und zentrifugiert, um Kristalle zu entfernen, die sich möglicherweise während der Tiefkühlagerung gebildet hatten.

Um eine größtmögliche Schonung der Chromatographiesäulen zu erreichen, wurde noch eine Fettextraktion mit Chloroform angeschlossen. Hierbei wurde jeder Probe Chloroform im Verhältnis 1:1 zugesetzt. Danach wurden die so behandelten Proben 15 min geschüttelt (REAX 2, Heidolph, Kehlheim).

Anschließend wurden die Proben bei 15000xg 30 Minuten zentrifugiert (Spinco 50, Beckman, München; Ti-50 Rotor; Polyallomerzentrifugenröhrchen, Kontron, Eching).

Aufgrund der zu erwartenden sehr niedrigen Konzentrationen der zu erfassenden Verbindungen, wurden die Proben mit Hilfe eines Lyophilisators (Beta, Fa. Christ) getrocknet und in etwa der Hälfte des ursprünglichen Volumens wieder aufgenommen.

Die im Verlauf der Probenaufbereitung vorgenommenen Verdünnungs- bzw. Konzentrierungsschritte wurden für jede einzelne Probe verbucht. An Hand dieser Zahlen wurden die Analysenergebnisse nach folgender Formel umgerechnet:

$$x [\mu\text{mol/l}] = y [\mu\text{mol/l}] * (a + \text{HClO}_4 / a) * (b + \text{KOH+I} / b) * (d / c)$$

x = berechnete Endkonzentration der
Plasmaprobe

y = an Hand der Analysenergebnisse
errechnete Konzentration

a = Menge des Blutplasmas

b = Menge der Probe nach der Protein-
fällung

c = Probenmenge, die im Lyophilisator
getrocknet wurde

d = Flüssigkeitsmenge in der die ge-
trocknete Probe wiederaufgenommen
wurde

HClO_4 = Menge an zugegebener Perchlorsäu-
relösung

KOH+I = Menge der zugegebenen KOH und des
Indikators

2.4. Analytische Methoden

2.4.1. Analysenbedingungen

Die Purin- und Pyrimidinverbindungen wurden mit Hilfe der Reversed-phase-Hochdruckflüssigkeitschromatographie qualitativ und quantitativ erfaßt.

Die Anlage setzte sich wie folgt zusammen:

-Pumpe:	Modell BIP I, Jasco, Tokyo, Japan Modell 300C, Gynkotec, München
-Autosampler:	Modell 460, Kontron, Eching
-Kühlaggregat:	Modell DLK 500 TPA, Fryka Kälte- technik, Esslingen
-Absorbance detector:	Modell 40 Waters Ass., München Modell 2151 Variable wavelength monitor, LKB, Bromma, Schweden
-Integrator:	Modell 3380 A bzw. 3396 A, Hewleth-Packard, Frankfurt

Sämtliche Analysen wurden mit 2 hintereinandergeschalteten Säulen ODS II 5 µm, 4,6x250 mm (Grom, Ammerbuch) durchgeführt.

Um die Lebensdauer der Säulen zu verlängern, wurde eine Vorsäule ODS II 3µm 4,6x30 mm vorgeschaltet.

Die Bödenzahl der beiden Säulen mit Vorsäule wurde in regelmäßigen Abständen erfaßt und bewegte sich zwischen 70000 - 80000 Böden/m.

Die analytischen Bedingungen wurden - aufbauend auf den Ergebnissen von Tiemeyer und Giesecke (1982) und Tiemeyer et al. (1984) - wie folgt gewählt:

- Purine und Pyrimidine ohne Allantoin:

- o Wellenlänge: 254 nm
- o Elutionsmittel: 0.01 molare $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$
pH 6.0

- Allantoin:

- o Wellenlänge: 214 nm
- o Elutionsmittel: 0.5 molare $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$
pH 6.0

Das Elutionsmittel wurde täglich frisch gemischt, durch Membranfilter (Typ HA, 0.45 μm Porengröße, Fa. Millipore Corp., Bedford, USA) filtriert und anschließend entgast.

Zur Identifizierung der Peaks wurden Standardverbindungen (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) benutzt.

Die quantitative Erfassung erfolgte über einen Vergleich der Peakflächen definierter Standardkonzentrationen und der unbekannten Probe.

Die oben erwähnten Standardlösungen wurden täglich neu hergestellt.

Die Auswertung der Peakflächen erfolgte über einen Integrator. Sehr kleine Peaks wurden z.T. von Hand nach der Dreiecksmethode (Schwendt, 1979) überprüft.

- I : Orotsäure
 II : Harnsäure
 III : Kreatinin
 IV : Pseudouridin
 V : Cytidin
 VI : Hypoxanthin
 VII : Uridin
 VIII: Hippursäure

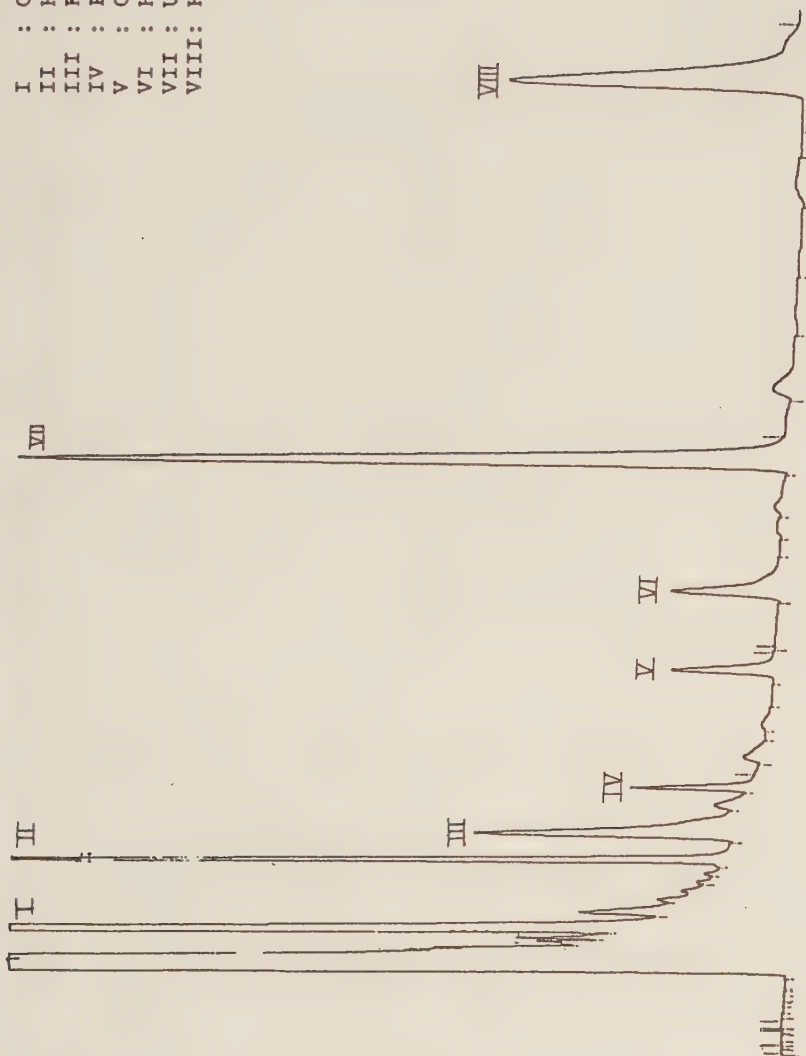


Abbildung 2: Chromatogramm einer enteweißten und entfetteten Milchprobe
 Säule: ODS II 5µm 500x4.6mm; Wellenlänge: 254nm; Elutionsmittel: 0.01mol/l
 NH₄H₂PO₄, pH 6.0; Einspritzvolumen: 10µl

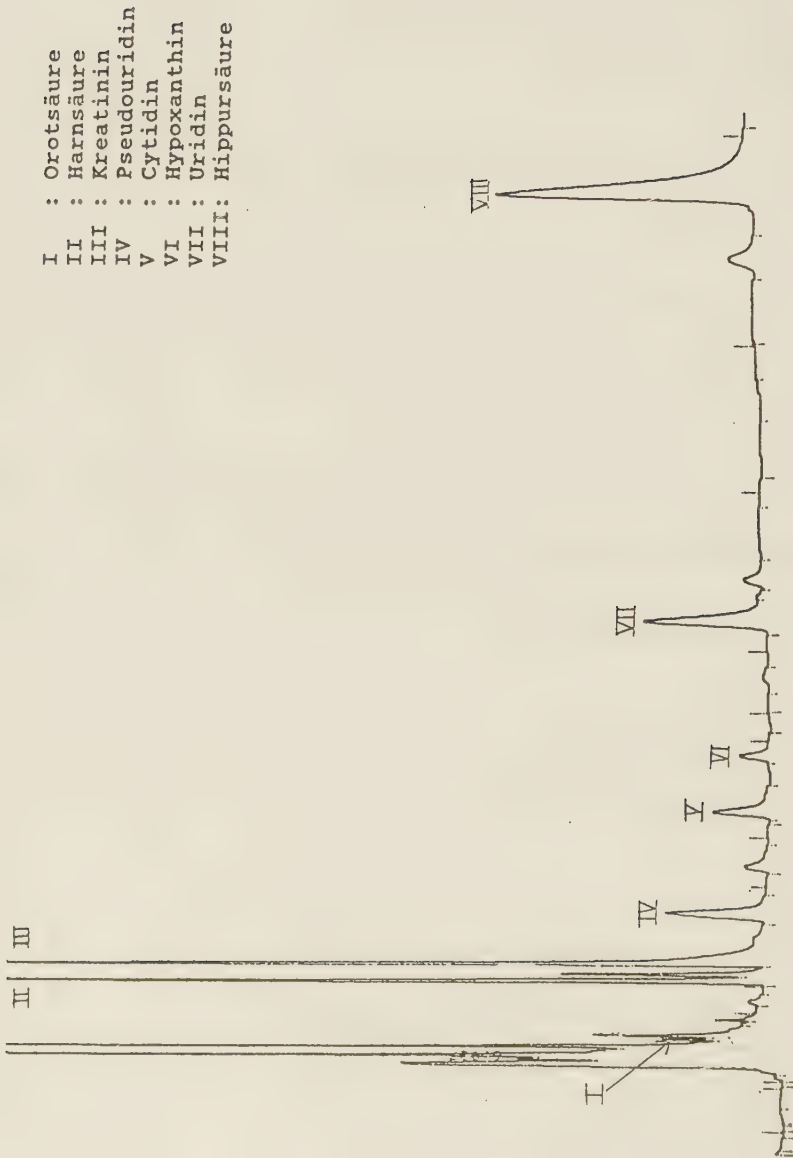


Abbildung 3: Chromatogramm einer enteweißten und konzentrierten Plasmaprobe
 Säule: ODS II 5µm 500x4.6mm; Wellenlänge: 254nm; Elutionsmittel: 0.01mol/l
 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, pH 6.0; Einspritzvolumen: 10µl

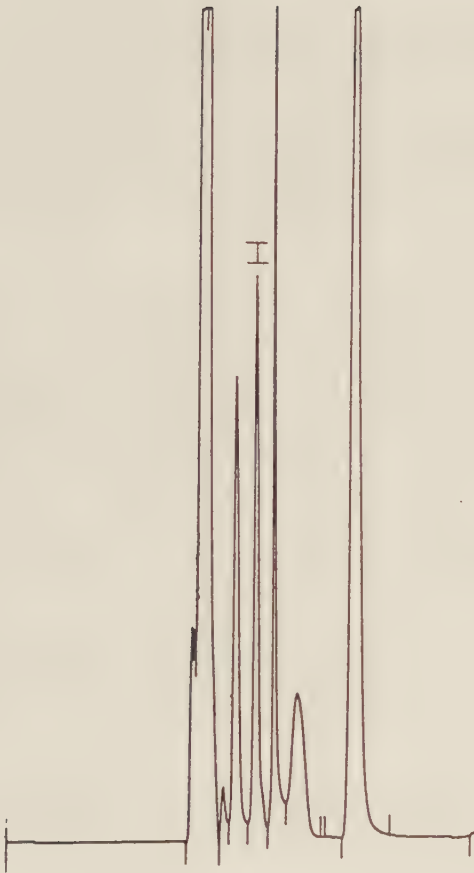


Abbildung 4:

Chromatogramm einer enteiweißten und entfetteten Milchprobe

Säule: ODS II 5 μ m 500x4.6mm;

Wellenlänge: 214nm;

Elutionsmittel: 0.5mol/l $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, pH 6.0;

Einspritzvolumen: 10 μ l

I: Allantoin

2.4.2. Präzision und Wiederfindung

Um die Präzision der HPLC-Anlage einschließlich des Autosamplers zu überprüfen, wurde täglich der Variationskoeffizient von mindestens 5 identischen Standards berechnet. Nur bei Werten unter 1% wurden Analysen durchgeführt.

Sowohl für die Milch- als auch für die Blutproben wurde eine Wiederfindung durchgeführt. Dabei wurde der Vollmilch bzw. dem Blutplasma jeweils eine Standardlösung zugesetzt, welche die untersuchten Verbindungen in so hoher Konzentration enthielt, daß sich die Endkonzentration in der Probe in etwa verdoppelte ohne daß eine zu starke Verdünnung der Ausgangskonzentration erfolgte. Die ermittelten Werte wurden in Tabelle 4 und 5 zusammengefaßt. Alle Ergebniswerte wurden mit den entsprechenden Faktoren auf 100% umgerechnet. Die fehlende Wiederfindung für Hypoxanthin in der Milch dürfte auf die Aktivität der Xanthinoxidase in der Milch zurückzuführen sein (Stohrer, 1987).

Tab.5: Wiederfindung und Präzision der Milchanalysen

	Wiederfindung in %	Präzision in %	n
Orotsäure	97.48	2.15	9
Harnsäure	109.51	2.52	9
Kreatinin	91.70	1.84	9
Pseudouridin	97.72	0.82	9
Hypoxanthin	nicht nachweisbar		
Cytidin	109.37	3.93	9
Uridin	99.67	1.67	9
Hippursäure	95.23	1.15	5
Allantoin	91.88	0.70	8

Tab.4: Wiederfindung und Präzision der Plasmaanalysen

	Wiederfindung in %	Präzision in %	n
Orotsäure	97.42	1.69	7
Harnsäure	88.85	2.68	10
Kreatinin	85.83	2.90	10
Pseudouridin	99.78	2.93	7
Cytidin	105.14	2.93	10
Hypoxanthin	86.65	3.72	10
Uridin	96.86	2.90	10
Hippursäure	87.66	2.66	10
Allantoin	95.17	3.14	7

2.5. Statistische Methoden

Alle Berechnungen wurden nach den Methoden von Sachs (1972) durchgeführt.

Die Werte wurden als Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen angegeben. Konzentrationsunterschiede wurden mit Hilfe des U-Testes auf Signifikanz geprüft.

Die Korrelationskoeffizienten wurden mit einer Signifikanztabelle auf Signifikanz gegen Null geprüft (Documenta Geigy; 1968). Die angegebenen Vertrauensbereiche wurden auf dem 99.9% Niveau berechnet.

Verschiedenen Werte der HF-Kuh 214 wurden auf Grund der Ergebnisse des Tests nach Dixon als Extremwerte aus den Mittelwertberechnungen für die gesamte Versuchsgruppe ausgeklammert. Sie wurden nur in die Mittelwerte einbezogen, die speziell für dieses Tier berechnete wurden.

3. Ergebnisse

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen werden anschließend nach Pyrimidin- und Purinverbindungen einschließlich Allantoin getrennt besprochen.

Der Aufbau dieser Abschnitte ist für jede Verbindung ähnlich. Erst werden die Ergebnisse der untersuchten Milchproben, dann die der Plasmaproben wiedergegeben. Die Milch- und Plasmawerte werden einander in einer Tabelle gegenübergestellt. An die Einzeldarstellung schließt sich eine Gegenüberstellung der Gesamtpurin und -pyrimidinverbindungen an.

Den Abschluß bilden zwei Verbindungen, die weder mit dem Pyrimidin- noch mit dem Purinstoffwechsel verbunden sind. Sie wurden als Bezugsparameter für Stoffe, die aus dem Blut stammen, mituntersucht.

3.1. Pyrimidinverbindungen

3.1.1. Orotsäure

Der Orotsäuregehalt der untersuchten Milchproben betrug bei den Holstein-Friesian-Kühen $456.84 \pm 90.14 \mu\text{mol/l}$. Bei den Deutsch-Fleckvieh-Kühen enthielt die Milch eine nicht signifikant niedrigere Konzentration von $426.40 \pm 89.87 \mu\text{mol/l}$ (vgl. Tab.6).

Bei Betrachtung der Mittelwerte der einzelnen Probenentnahmetage (vgl. Tab.7) fiel bei den Holstein-Friesian-Kühen ein leichter Anstieg der Orotsäurekonzentration auf. Allerdings war der Unterschied zwischen dem ersten und dem letzten Tag nicht signifikant.

Tabelle 6: Orotsäurekonzentration in Milchproben von HF- und DFV-Kühen

	HF ^a	DFV ^b	Rassen- unterschied
Milch μmol/l	456.84 ±90.14	426.40 ±89.87	n.s.

n.s. = nicht signifikant

a= Mittelwert aus je 6 Proben von 12 Tieren

b= Mittelwert aus je 6 Proben von 6 Tieren

Bei den Deutsch-Fleckvieh-Kühen veränderte sich die Orotsäurekonzentration über den Probenentnahmezeitraum hinweg kaum (vgl. Tab.7).

Tabelle 7: Orotsäurekonzentration in den Milchproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	μmol/l	n	μmol/l	n
1	429.63 ±104.85	12	426.11 ± 89.66	6
2	403.56 ± 81.73	12	412.05 ±107.65	6
3	461.31 ± 60.71	11	427.56 ± 88.39	6
4	466.06 ± 74.41	12	443.35 ± 87.48	6
5	479.50 ±107.62	12	419.62 ± 94.04	6
6	505.43 ± 80.44	11	429.73 ±109.27	6

Dies wäre auch nicht zu erwarten gewesen, da sich die Kühe zur Zeit der Probenentnahme schon in der vollen Laktation befanden, wie man an Hand der konstant bleibenden Milchleistung feststellen konnte (vgl. Tab.3).

Die zum Teil beträchtlichen Standardabweichungen wurden dadurch verursacht, daß sich die sechs DFV-Kühe bezüglich der Orotsäurekonzentration in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen bewegten, die allerdings keine lineare Beziehung zur Milchleistung zeigten.

Bei den HF-Kühen waren die Streuungen vor allem auf die Werte der Kuh 214 zurückzuführen, die eine mittlere Konzentration von nur $293.5 \pm 26.35 \mu\text{mol/l}$ aufwiesen. Die Gründe hierfür lagen wohl in der sehr niedrigen Milchleistung von nur 3.60 kg/d (vgl. Tab.3).

Diese Annahme wurde dadurch gestützt, daß die tägliche Orotsäureausscheidung mit ansteigender Milchleistung ebenfalls zunahm (vgl. Abb.5). Die Zunahme beruhte aber nicht allein auf der steigenden Milchleistung, sondern auch für die Orotsäurekonzentration in der Milch war eine Korrelation vorhanden, die allerdings nicht signifikant war.

Bei der Analyse der Plasmaproben konnten unter den gegebenen analytischen Bedingungen keine reproduzierbaren Ergebnisse hinsichtlich der Orotsäurekonzentration erzielt werden.

Der Gehalt an Orotsäure war so gering, daß die dieser Konzentration von ca. $1 \mu\text{mol/l}$ entsprechende Peakfläche des Chromatogramms nicht sicher genug auswertbar war. Außerdem war der Orotsäurepeak zum Teil durch andere Peaks überlagert.

Um die Orotsäure in Plasmaproben gesichert qualitativ und quantitativ nachweisen zu können, mußten die analytischen Methoden abgewandelt werden z.B. durch Verwendung einer Trennsäule mit anderem Packungsmaterial.

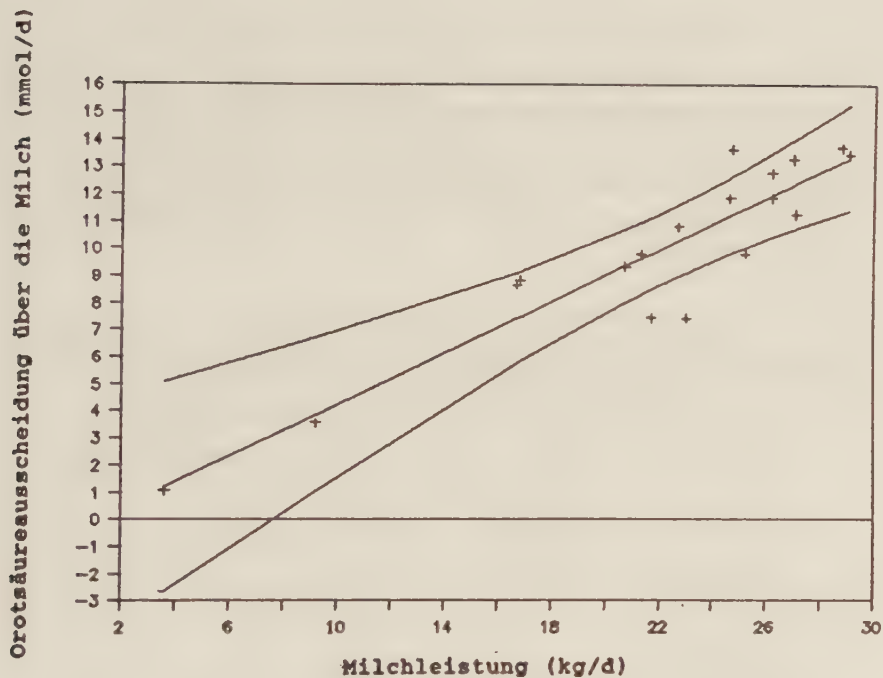


Abb. 5: Tägliche Orotsäureausscheidung über die Milch in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = -0.511 + 0.476 x$$

$$r = 0.923$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

3.1.2. Uridin

Die mittlere Uridinkonzentration in der Milch von Holstein-Friesian-Kühen betrug $61.89 \pm 25.37 \mu\text{mol/l}$. In der Milch der Deutsch-Fleckvieh-Kühe lag der Mittelwert mit $53.25 \pm 19.53 \mu\text{mol/l}$ nicht signifikant niedriger (vgl. Tab. 8).

Tabelle 8: Uridinkonzentration in Milch- und Blutproben von HF- und DFV-Kühen

	HF ^a	DFV ^b	Rassen- unterschied
Milch $\mu\text{mol/l}$	61.89 ± 25.37	53.25 ± 19.53	n.s.
Plasma $\mu\text{mol/l}$	6.39 ± 1.81	4.81 ± 1.20	$p < 0.01$
Quotient Milch/ Plasma	9.69	11.07	

a= Mittelwert aus je 6 Proben von 12 Tieren

b= Mittelwert aus je 6 Proben von 6 Tieren

n.s. = nicht signifikant

Der Verlauf der Uridinkonzentration in den Milchproben zeigte sowohl bei den Holstein-Friesian als auch bei den Deutsch-Fleckvieh-Kühen eine leicht abfallende Tendenz (vgl. Tab.9). Allerdings war der Unterschied zwischen den Werten des ersten und denen des letzten Tages nicht signifikant. Die zum Teil beträchtlichen Standardabweichungen wurden durch individuelle Schwankungen von einem Probenentnahmeterrain zum nächsten verursacht. Andererseits waren sie wohl auch durch die Abhängigkeit der Uridinkonzentration von der Milchleistung mitbegründet (vgl. Abb.6).

Die trotz dieser Erklärung immer noch auffallenden Werte des fünften und sechsten Probenentnahmetages bei den DFV-Kühen hatten ihre Ursache in einem steilen Abfall der Werte der DFV-Kuh 48 von 44.02 $\mu\text{mol/l}$ am vierten Tag auf 8.33 $\mu\text{mol/l}$ am fünften bzw. 6.27 $\mu\text{mol/l}$ am sechsten Tag.

Tabelle 9: Uridinkonzentration in den Milchproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	77.77 $\pm$ 29.82	11	64.66 $\pm$ 21.71	6
2	73.01 $\pm$ 28.22	11	52.62 $\pm$ 13.71	6
3	54.02 $\pm$ 20.23	12	64.71 $\pm$ 11.58	6
4	52.11 $\pm$ 22.06	12	55.01 $\pm$ 15.09	6
5	60.90 $\pm$ 19.61	11	41.95 $\pm$ 22.63	6
6	55.70 $\pm$ 24.68	12	40.54 $\pm$ 21.70	6

Die HF-Kuh 214 fiel auch wegen ihrer extrem niedrigen Uridinkonzentrationen in den Milchproben auf. Die Werte waren nur in den Proben von vier Entnahmeterminen auswertbar. Der Mittelwert dieser Proben betrug $4.73 \pm 2,95 \mu\text{mol/l}$. Als Erklärung könnte auch hier der oben bereits erwähnte Zusammenhang zwischen der Uridinkonzentration und der Milchleistung dienen, da die Kuh 214 nur 3.60 kg Milch/Tag produzierte. Neben der Konzentration war eine deutliche Zunahme der Uridinaus-

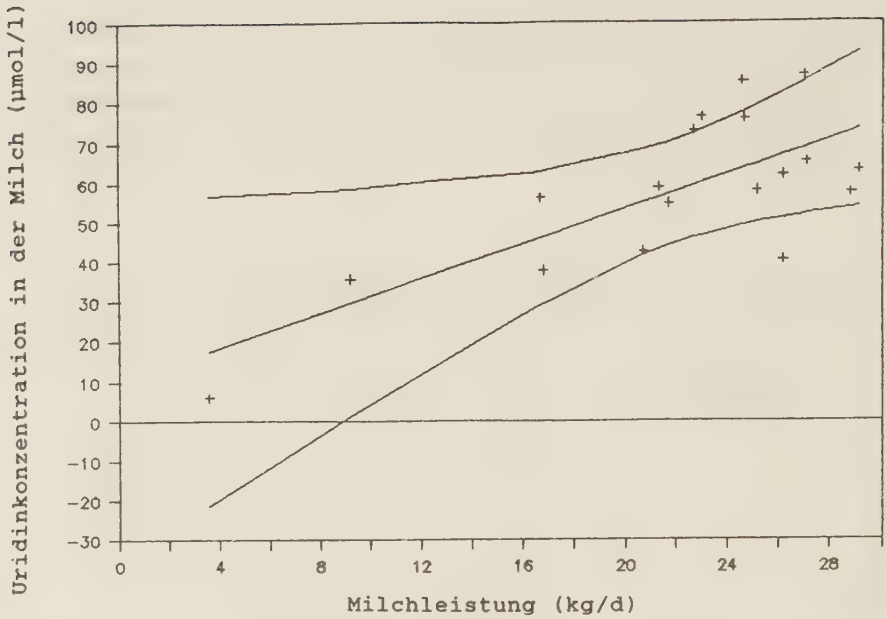


Abb. 6: Uridinkonzentration in den Milchproben in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = 9.689 + 2.179 x$$

$$r = 0.737$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

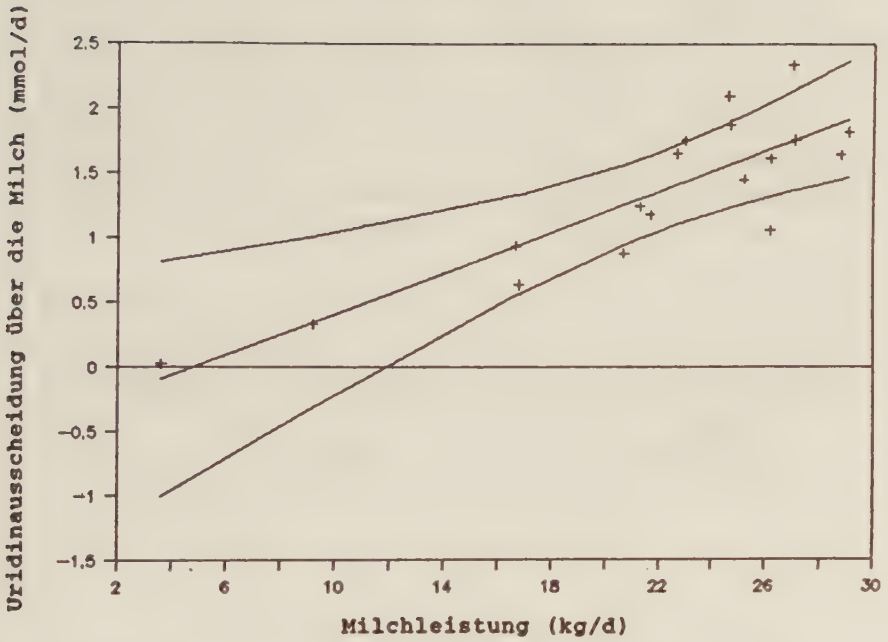


Abb 7: Tägliche Uridinausscheidung über die Milch in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = -0.383 + 0.079 x$$

$$r = 0.862$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

scheidung mit steigender Milchleistung zu erkennen (vgl. Abb.7).

Die Uridinkonzentration in den Plasmaproben der Holstein-Friesian Kühe betrug 6.39 ± 1.81 mol/l. Die DFV-Kühe hingegen wiesen mit 4.81 ± 1.20 μ mol/l einen signifikant ($p < 0.01$) niedrigeren Gehalt auf. Im Vergleich zu den Milchproben lag die Konzentration um ca. 90% niedriger (vgl. Tab.8).

Tabelle 10: Uridinkonzentration in den Plasmaproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	μ mol/l	n	μ mol/l	n
1	6.69 $\pm$ 1.58	11	5.17 $\pm$ 1.65	5
2	6.35 $\pm$ 1.70	12	5.03 $\pm$ 1.68	6
3	5.82 $\pm$ 2.18	11	4.20 $\pm$ 0.95	6
4	6.04 $\pm$ 1.97	11	4.71 $\pm$ 1.28	6
5	6.17 $\pm$ 2.22	12	4.91 $\pm$ 1.09	6
6	7.35 $\pm$ 0.63	10	4.93 $\pm$ 0.37	5

Der Verlauf der Uridinkonzentration in den Plasmaproben zeigte keine nennenswerten Veränderungen über den Probenentnahmezeitraum hinweg. Die Werte wurden in Tabelle 10 für die Holstein-Friesian und die Deutsch-Fleckvieh-Kühe zusammengefaßt.

Die Werte der HF-Kuh 214 sollten auch hier gesondert erwähnt werden, da sie einen sehr speziellen Verlauf

zeigten. Die Uridinkonzentration der ersten Probe entsprach in etwa den Werten der HF-Tiere, anschließend sanken die Werten aber stark ab. Am sechsten Proben tag war die Uridinkonzentration quantitativ nicht mehr nachweisbar.

Dieser Verlauf fand in den höheren Standardabweichungen am dritten, vierten und fünften Untersuchungstag seinen Ausdruck.

Ein Zusammenhang zwischen steigenden Uridinkonzentrationen im Plasma und dem Anstieg der Konzentration in den Milchproben konnte nicht nachgewiesen werden.

Ein Erklärung für die relativ hohen Uridinkonzentrationen in den Milchproben könnte im Laktosestoffwechsel der Milchdrüse liegen.

3.1.3. Cytidin

Die Cytidinkonzentration in der Milch der Holstein-Friesian-Kühe betrug $5.64 \pm 1.22 \mu\text{mol/l}$. Die Konzentration in den Milchproben der Deutsch-Fleckvieh-Kühe war im Vergleich dazu signifikant ($p < 0.01$) niedriger und betrug $4.16 \pm 1.01 \mu\text{mol/l}$ (vgl. Tab.11).

Tabelle 11: Cytidinkonzentration in Milch- und Plasma-proben von HF- und DFV-Kühen

	HF	DFV	Rassen- unterschied
Milch $\mu\text{mol/l}$	5.64 ± 1.22	4.16 ± 1.01	$p < 0.01$
Plasma $\mu\text{mol/l}$	5.55 ± 1.87	3.58 ± 1.26	$p < 0.01$

a= Mittelwert aus je 6 Proben von 12 Tieren

b= Mittelwert aus je 6 proben von 6 Tieren

Die Werte, die in der Tabelle 12 zusammengefaßt wurden, zeigten ein relativ stabiles Konzentrationsniveau, das sich über den Probenentnahmezeitraum kaum veränderte. Die Standardabweichungen sind auf ungerichtete Streuungen der Einzelwerte der untersuchten Kühe um einen mittleren Wert zurückzuführen.

Bei den Deutsch-Fleckvieh-Kühen war ein Abfall der Werte der Kuh 48 am fünften Tag auf $1.76 \mu\text{mol/l}$ festzustellen. Die Probe des sechsten Tages war quantitativ nicht auswertbar.

Die Cytidinkonzentration der HF-Kuh 214 lag deutlich unter dem Niveau der restlichen Tiere bei $1.85 \pm 0.71 \mu\text{mol/l}$.

Tabelle 12: Cytidinkonzentration in den Milchproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	5.62 $\pm$ 1.03	11	4.24 $\pm$ 1.06	6
2	6.00 $\pm$ 0.90	11	3.86 $\pm$ 0.82	6
3	5.34 $\pm$ 1.58	12	4.76 $\pm$ 1.27	6
4	5.45 $\pm$ 1.50	12	4.01 $\pm$ 1.20	6
5	5.48 $\pm$ 1.41	12	3.72 $\pm$ 1.08	6
6	5.97 $\pm$ 0.65	11	4.42 $\pm$ 0.34	5

Die Cytidinkonzentration erhöhte sich mit steigender Milchleistung (vgl. Abb.8). Die Cytidinausscheidung, die in Abbildung 9 wiedergegeben ist, stieg ebenfalls in Abhängigkeit von der zunehmenden Milchproduktion.

Die Konzentration von Cytidin in den Plasmaproben der Holstein-Friesian-Kühe betrug $5.55 \pm 1.87 \mu\text{mol/l}$. Auch hier ergab sich für das Deutsche-Fleckvieh eine signifikant ($p < 0.01$) niedrigere Konzentration. Sie lag bei $3.58 \pm 1.26 \mu\text{mol/l}$ (vgl. Tab.11).

Die Cytidinkonzentration im Plasma zeigte über den Probenentnahmezeitraum bei beiden Rassen keine Veränderungen im Niveau (vgl. Tab.13).

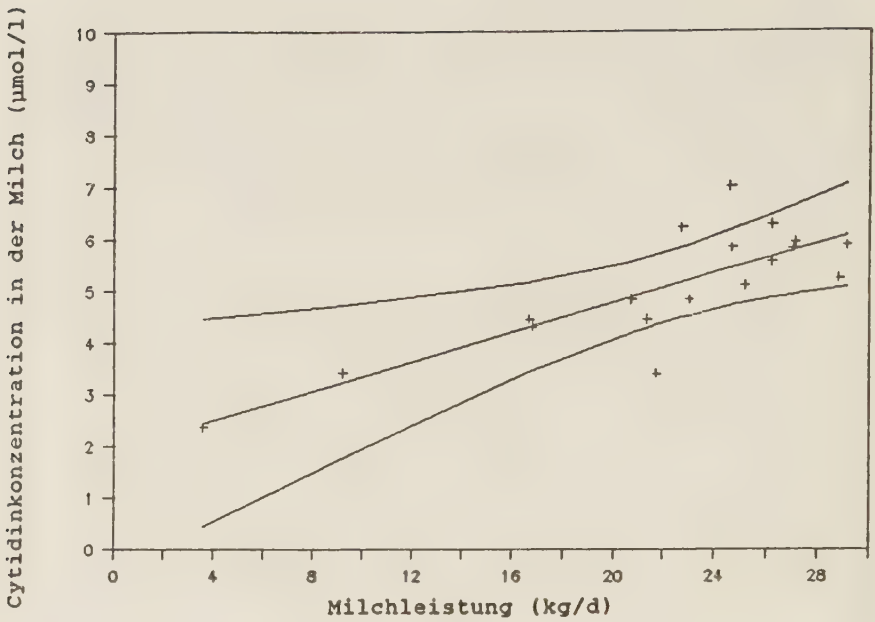


Abb. 8: Cytidinkonzentration in der Milch in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = 1.940 + 0.142 x$$

$$r = 0.809$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

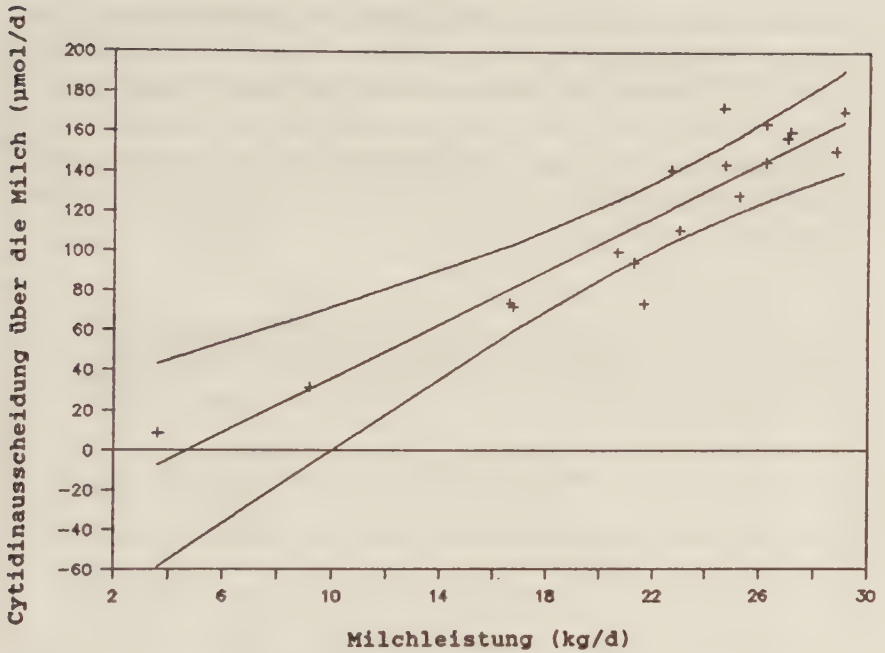


Abb. 9: Cytidinausscheidung über die Milch bezogen auf die Milchleistung

$$y = -32.040 + 6.784 x$$

$$r = 0.933$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

Allerdings waren die individuellen Schwankungen von einer Probenentnahme zur nächsten zum Teil beträchtlich. So betrug die Konzentration bei der HF-Kuh 210 am fünften Tag $10.39 \mu\text{mol/l}$ am sechsten Tag dagegen nur $6.46 \mu\text{mol/l}$. Ähnliche Schwankungen traten auch bei den DFV-Kühen auf (Kuh 50: zweiter Tag $5.81 \mu\text{mol/l}$; dritter Tag $2.92 \mu\text{mol/l}$).

Tabelle 13: Cytidinkonzentration in den Plasmaproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	5.65 ± 0.92	11	4.66 ± 1.85	5
2	5.91 ± 1.77	12	3.99 ± 1.48	6
3	5.02 ± 2.33	11	2.62 ± 1.01	6
4	5.24 ± 2.13	11	3.45 ± 1.01	6
5	5.80 ± 2.42	12	3.53 ± 0.91	6
6	5.61 ± 1.36	10	3.38 ± 0.32	5

Auch hinsichtlich der Cytidinkonzentration im Plasma war die Kuh 214 besonders auffallend. Dabei trat der erste Wert speziell hervor, da er sich noch auf dem Niveau der Konzentrationen der anderen HF-Kühe befand. Im Gegensatz dazu lagen die nachfolgenden Werten mit $2.55 \pm 0.71 \mu\text{mol/l}$ deutlich darunter.

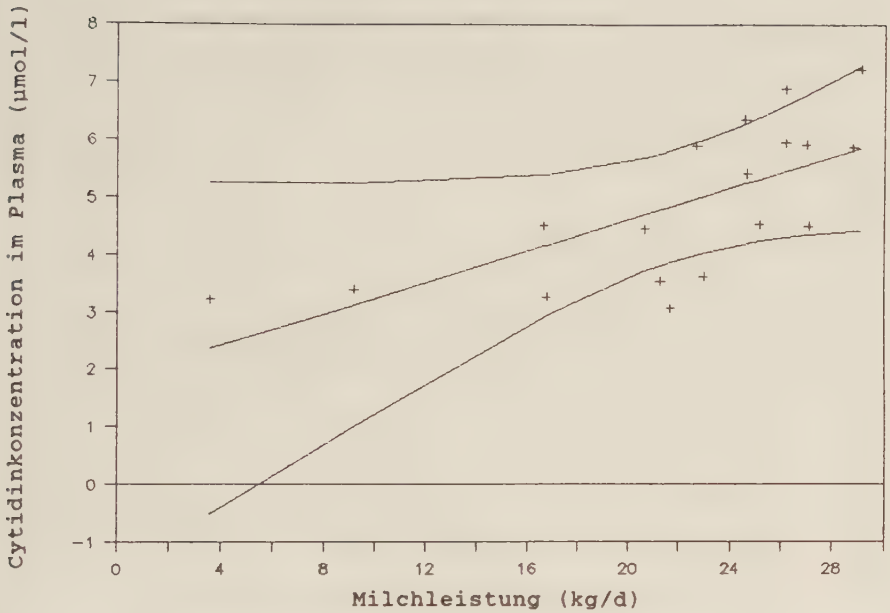


Abb. 10: Cytidinkonzentration im Plasma in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = 1.868 + 0.137 x$$

$$r = 0.681$$

$$p < 0.05$$

$$n = 18$$

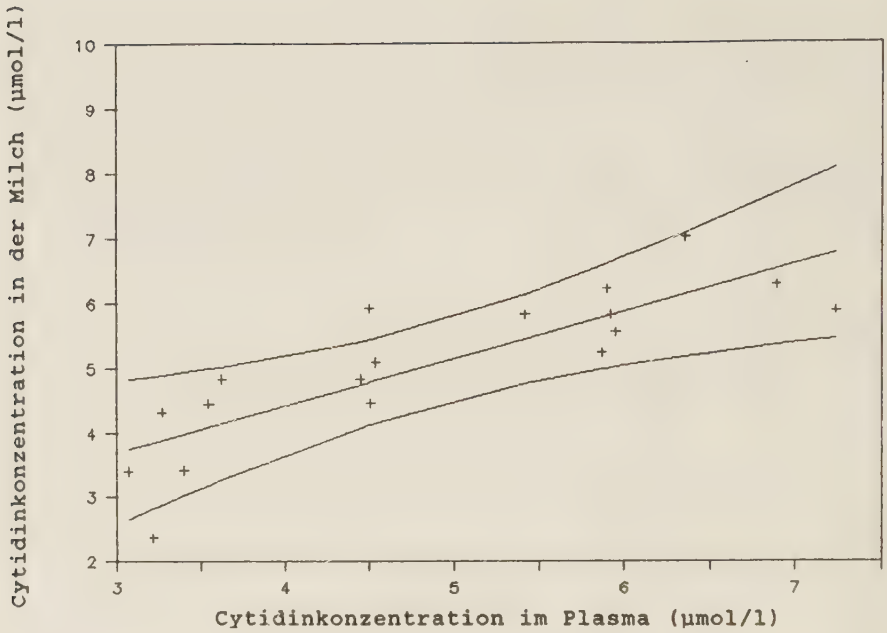


Abb. 11: Vergleich der Cytidinkonzentration im Plasma und der Cytidinkonzentration in der Milch

$$y = 1.520 + 0.724 x$$

$$r = 0.832$$

$$p < 0.0001$$

$$n = 18$$

Der Zusammenhang zwischen einem Anstieg der Milchleistung und der Cytidinkonzentration im Plasma wurde in Abb.10 wiedergegeben. Es war ein deutlicher Konzentrationsanstieg mit zunehmender Milchleistung zu verzeichnen.

Auffallend war, daß die Cytidinkonzentrationen in den Milch- und Plasmaproben annähernd gleich hoch waren (vgl. Tab.12 und 13). Bei den DFV-Kühen waren die ersten beiden Konzentrationen der Plasmaproben höher als die betreffenden Werte der Milchproben. Anschließend verhielten sich die Werte aber umgekehrt. Nach Abbildung 11 bestand ein enger Zusammenhang zwischen dem Anstieg der Plasmawerte und der Zunahme der Konzentration der Milchproben.

3.1.4. Pseudouridin

Die Pseudouridinkonzentration in der Milch der Holstein-Friesian-Kühe betrug $4.41 \pm 1.08 \mu\text{mol/l}$. Die Deutsch-Fleckvieh-Kühe hatten mit $3.76 \pm 1.15 \mu\text{mol/l}$ einen niedrigeren Gehalt, der aber nicht signifikant unterschiedlich war (vgl. Tab.14).

Tabelle 14: Pseudouridinkonzentration in Milch- und Plasmaproben von HF- und DFV-Kühen

	HF ^a	DFV ^b	Rassen- unterschied
Milch $\mu\text{mol/l}$	4.41 ± 1.08	3.76 ± 1.15	n.s.
Plasma $\mu\text{mol/l}$	6.11 ± 1.57	5.62 ± 1.52	n.s.
Quotient Plasma/ Milch	1.38	1.49	

n.s. = nicht signifikant

a= Mittelwert aus je 6 Proben von 12 Tieren

b= Mittelwert aus je 6 Proben von 6 Tieren

Der Verlauf der Pseudouridinkonzentration in den Milchproben (vgl. Tab.15) blieb sowohl bei den Holstein-Friesian als auch bei den Deutsch-Fleckvieh-Kühen relativ konstant, wie auf Grund der Laktationsphase, in der sich die Tiere zu Zeitpunkt der Probenentnahme befanden nicht anders zu erwarten war (vgl. Tab.3).

Die Standardabweichungen von den angegebenen Mittelwerten rührten daher, daß die Werte der einzelnen Tiere von einem Probenentnahmetermin zum nächsten um den Mittelwert schwankten. Speziell für die letzten beiden Werte der DFV-Kühe trat aber noch ein anderer Effekt in Erscheinung, nämlich ein Absinken der Werte der Kuh 48

von 3.82 $\mu\text{mol/l}$ am vierten Tag auf 2.00 $\mu\text{mol/l}$ am fünften bzw. 0.99 $\mu\text{mol/l}$ Milchplasma am sechsten Tag. Für die HF-Kuh 214 konnte nur in der dritten Probe ein quantitativ auswertbares Ergebnis erzielt werden. In dieser Probe betrug die Konzentration 1.18 $\mu\text{mol/l}$ Milchplasma und lag damit deutlich unter den Werten der Holstein-Friesian-Gruppe.

Tabelle 15: Pseudouridinkonzentration in den Milchproben der HF- und DFV-Kühe an den einzelnen Probenentnahmetagen

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	4.72 $\pm$ 0.94	11	4.08 $\pm$ 0.91	6
2	4.55 $\pm$ 0.98	11	3.57 $\pm$ 0.46	6
3	4.33 $\pm$ 1.03	11	3.98 $\pm$ 0.88	6
4	4.15 $\pm$ 0.78	11	3.61 $\pm$ 1.53	6
5	4.69 $\pm$ 1.18	11	3.71 $\pm$ 1.39	6
6	4.30 $\pm$ 1.19	11	3.61 $\pm$ 1.68	6

Der sehr niedrige Wert von Kuh 214 und das Absinken der Werte der Kuh 48 sind möglicherweise auf Einflüsse durch die Milchleistung zurückzuführen. Wie in Abbildung 12 dargestellt wurde, stieg die Pseudouridinkonzentration in den Milchproben mit zunehmender Milchleistung an.

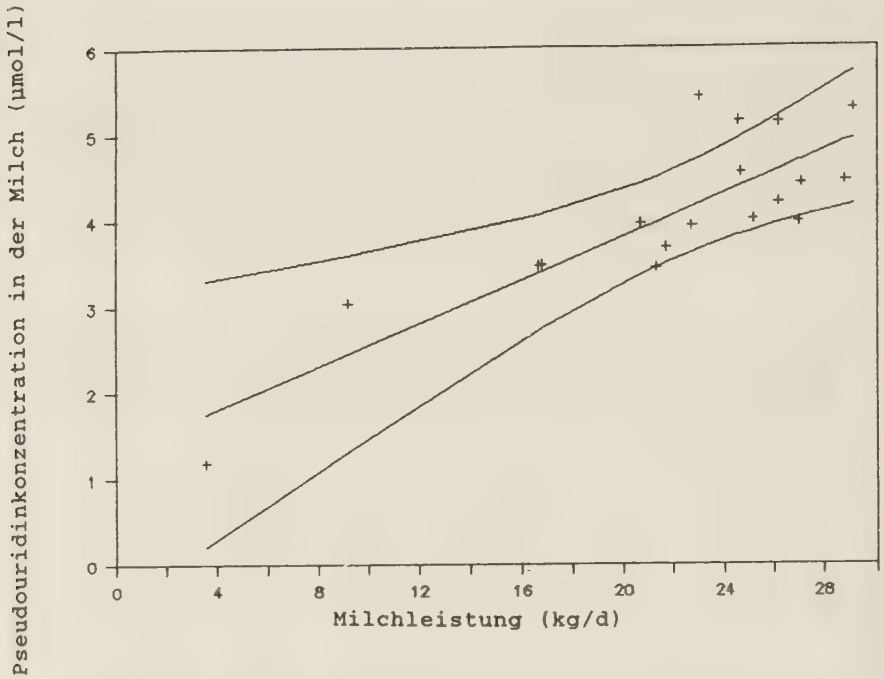


Abb. 12: Pseudouridinkonzentration in der Milch in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = 1.312 + 0.125 x$$

$$r = 0.843$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

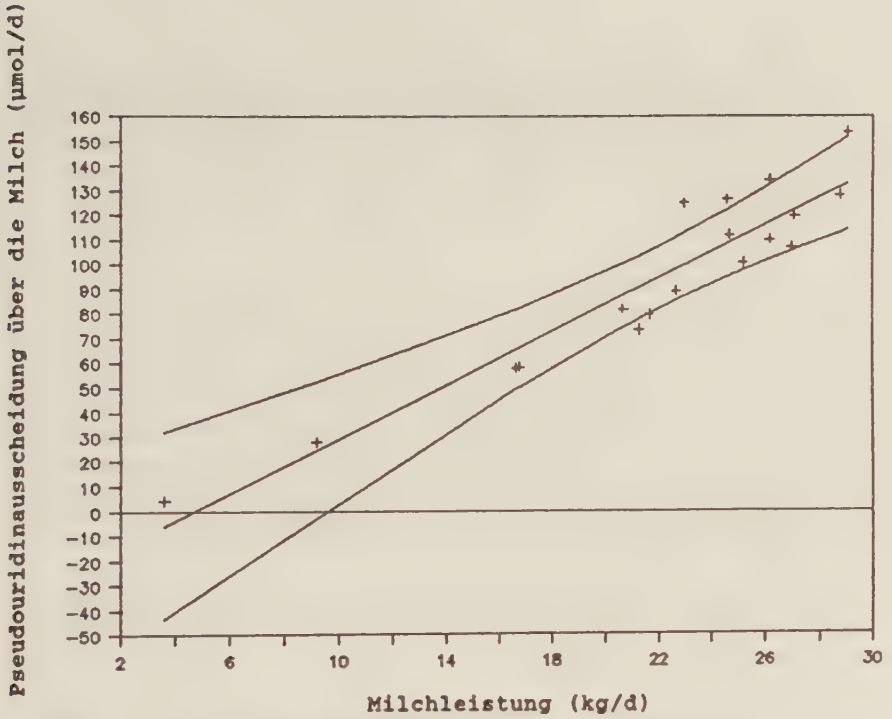


Abb. 13: Pseudouridinausscheidung über die Milch
in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = - 25.305 + 5.439 x$$

$$r = 0.942$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

Wie man aus den Abbildungen 12 und 13 ersehen kann, wird die Pseudouridinausscheidung sowohl von der mit der Milchleistung steigenden Pseudouridinkonzentration in der Milch als auch von der Milchproduktion selbst bestimmt.

Der Pseudouridingehalt im Plasma der Holstein-Friesian-Kühe betrug $6.11 \pm 1.57 \mu\text{mol/l}$. Das Blutplasma des Deutsch-Fleckvieh-Kühe enthielt $5.62 \pm 1.52 \mu\text{mol/l}$ und damit eine allerdings nicht signifikant niedrigere Konzentration. Im Vergleich zu den Milchproben lagen die Konzentrationen im Plasma bei den HF-Kühen um den Faktor 1.38 bzw. 1.49 bei den DFV-Kühen höher (vgl. Tab.14).

Der Verlauf der Pseudouridinkonzentration blieb über den Probenentnahmezeitraum hinweg bei beiden Rassen konstant (vgl. Tab.16).

Die individuellen Schwankungen der Parameter waren ziemlich groß. In der Gruppe der Deutsch-Fleckvieh-Kühe erreichte die Kuh 50 Spitzenwerte von $9.51 \mu\text{mol/l}$ am ersten und $10.60 \mu\text{mol/l}$ Blutplasma am vierten Tag. Die Werte der restlichen Plasmaproben dieses Tieres lagen auf dem gleichen Niveau wie die der DFV-Kühe. Das gleiche Bild zeigten auch die Holstein-Friesian-Kühe. Die Werte der Kuh 214 unterschieden sich deutlich von denen der HF-Gruppe. Der Mittelwert betrug $3.85 \pm 0.54 \mu\text{mol/l}$.

Tabelle 16: Pseudouridinkonzentration in den Plasmaproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	6.24 $\pm$ 1.96	11	5.94 $\pm$ 2.03	5
2	6.33 $\pm$ 1.56	12	5.40 $\pm$ 0.89	6
3	6.28 $\pm$ 1.27	11	6.07 $\pm$ 2.02	6
4	5.31 $\pm$ 1.41	11	6.13 $\pm$ 2.26	6
5	6.13 $\pm$ 1.35	11	5.16 $\pm$ 0.91	6
6	6.36 $\pm$ 1.85	11	5.08 $\pm$ 0.60	6

Zwischen der Pseudouridinkonzentration im Blutplasma und der Konzentration in den Milchproben konnte eine positive Korrelation berechnet werden (vgl. Abb.14).

Auffallend war auch, daß das Pseudouridin der einzige aller untersuchter Parameter war, dessen Plasmawerte deutlich höher waren als die Konzentrationen in den Milchproben.

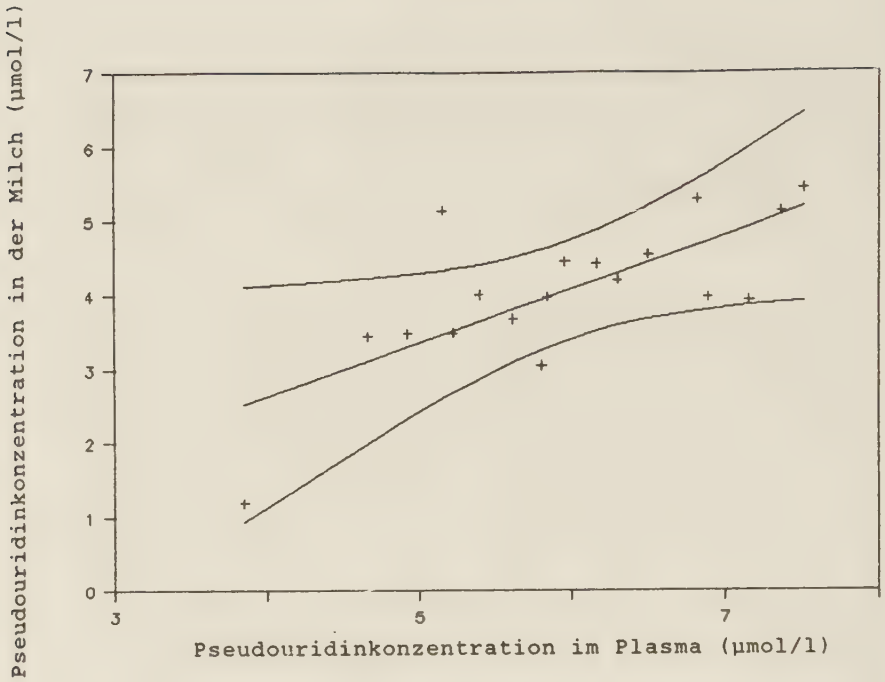


Abb. 14: Vergleich der Pseudouridinkonzentration im Plasma mit der Pseudouridinkonzentration in der Milch

$$y = - 0.269 + 0.724 x$$

$$r = 0.726$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

3.2. Purinverbindungen

3.2.1. Hypoxanthin

Die Hypoxanthinkonzentration in den Milchproben der Holstein-Friesian-Kühe betrug $4.39 \pm 1.93 \mu\text{mol/l}$. Die Milchproben der Deutsch-Fleckvieh-Kühe enthielten mit $4.57 \pm 2.04 \mu\text{mol/l}$ eine nicht signifikant höhere Konzentration (vgl. Tab.17).

Tabelle 17: Hypoxanthinkonzentration in Milchproben von HF- und DFV-Kühen

	HF ^a	DFV ^b	Rassen- unterschied
Milch $\mu\text{mol/l}$	4.39 ± 1.93	4.57 ± 2.04	n.s.

n.s. = nicht signifikant

a= Mittelwert aus je 6 Proben von 12 Tieren

b= Mittelwert aus je 6 Proben von 6 Tieren

Der Verlauf der Hypoxanthinwerte war bei beiden Rassen relativ konstant (vgl. Tab.18).

Auffallend an den Werten war, daß die Standardabweichung sehr hoch war. Die Ursache dafür lag weniger darin, daß die Werte von einem Probenentnahmetermin zum nächsten schwankten. Vielmehr zeigten sich Unterschiede im Konzentrationsniveau. Die Kuh 216 zum Beispiel erreichte im Mittel nur $2.88 \mu\text{mol/l} \pm 0.28 \mu\text{mol/l}$, die Kuh 211 dagegen erreichte $6.39 \mu\text{mol/l} \pm 0.60 \mu\text{mol/l}$. Bei den DFV-Kühen verhielten sich die Werte ähnlich.

Die HF-Kuh 214 zeigte hinsichtlich der Hypoxanthinkonzentration in den Milchproben keine deutlichen Unterschiede zur HF-Gruppe.

Tabelle 18: Hypoxanthinkonzentration in den Milchproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	4.69 $\pm$ 2.16	12	4.98 $\pm$ 1.96	6
2	4.49 $\pm$ 1.54	12	3.20 $\pm$ 1.37	5
3	3.72 $\pm$ 1.93	11	4.82 $\pm$ 2.24	5
4	4.07 $\pm$ 1.74	8	5.26 $\pm$ 2.07	5
5	3.99 $\pm$ 1.67	11	4.63 $\pm$ 3.32	4
6	5.43 $\pm$ 2.46	9	4.44 $\pm$ 1.49	4

Die Hypoxanthinausscheidung schien nur von der Milchproduktion abzuhängen. Die Beziehung, die sich daraus ergab, ist in Abbildung 15 wiedergegeben.

Die Hypoxanthinkonzentration im Plasma war sehr gering. Zum Teil waren die Proben quantitativ nicht auswertbar. Deshalb wurden in Tabelle 19 die Konzentrationen der einzelnen Proben für jedes Tiere aufgeführt. Im Unterschied zur Orotsäure, bei welcher ganz auf die Erwähnung von Konzentrationen verzichtet wurde (vgl.S.15), konnten hier immerhin für acht Tiere Angaben gemacht werden. Die Gründe dafür liegen darin, daß der entsprechende Peak im Chromatogramm gut von den anderen getrennt war.

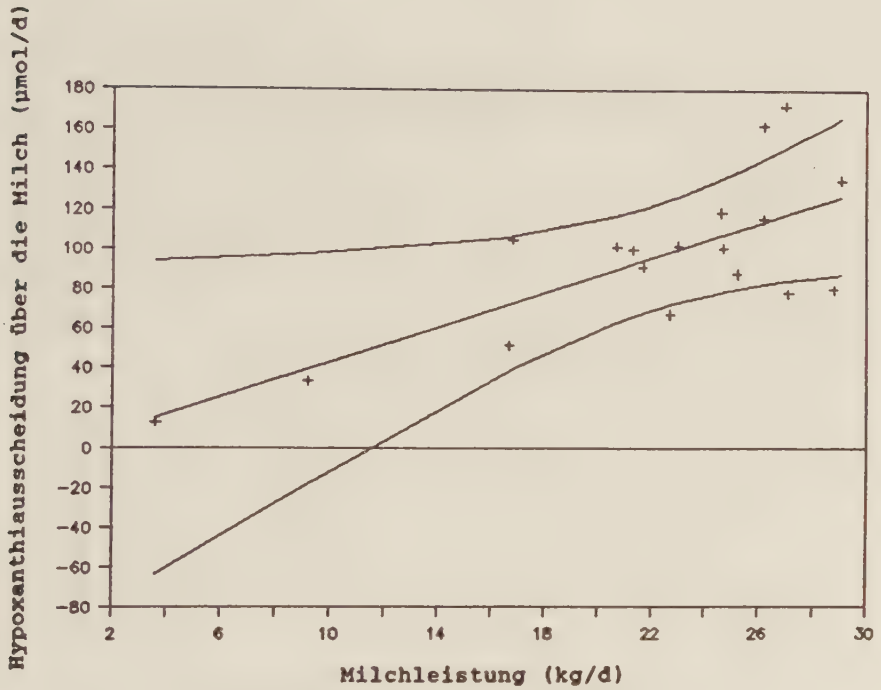


Abb. 15: Hypoxanthinausscheidung über die Milch
in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = -0.649 + 4.375 x$$

$$r = 0.736$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

Tabelle 19: Hypoxanthinkonzentration im Plasma von HF- und DFV-Kühen ($\mu\text{mol/l}$)

Kuh Nr.	Probenentnahmetag					
	1	2	3	4	5	6
51	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	1.70
52	n.b.	n.b.	n.b.	2.74	0.56	0.58
209	0.96	1.05	1.08	1.93	n.b.	n.b.
210	0.73	1.48	2.56	1.42	n.b.	n.b.
211	---	1.33	1.56	n.b.	n.b.	n.b.
212	2.98	n.b.	n.b.	---	n.b.	n.b.
217	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	3.20	0.69
218	n.b.	n.b.	---	n.b.	2.93	0.81
219	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	1.52	0.75

n.b. = nicht bestimmbar ($<0.5 \mu\text{mol/l}$)

Ein Vergleich der Milch- und Plasmakonzentrationen war deshalb natürlich schwierig.

Man konnte aber aus den vorhandenen Plasmawerten zumindest den Schluß ziehen, daß die Plasmakonzentrationen doch deutlich niedriger lagen als die entsprechenden Milchkonzentrationen.

3.2.2. Harnsäure

Die Harnsäurekonzentration in den Milchproben der Holstein-Friesian-Kühe betrug $64.58 \pm 26.27 \mu\text{mol/l}$. Für die Deutsch-Fleckvieh-Kühe ergab sich eine allerdings nicht signifikant höhere Konzentration von $73.38 \pm 26.26 \mu\text{mol/l}$ (vgl. Tab.20).

Tabelle 20: Harnsäurekonzentration in Milch- und Plasmaproben von HF- und DFV-Kühen

	HF ^a	DFV ^b	Rassen- unterschied
Milch $\mu\text{mol/l}$	64.58 ± 26.27	73.38 ± 26.26	n.s.
Plasma $\mu\text{mol/l}$	32.21 ± 9.45	35.95 ± 9.57	n.s.
Quotient Milch/ Plasma	2.00	2.04	

n.s. = nicht signifikant

a= Mittelwert aus je 6 Proben von 12 Tieren

b= Mittelwert aus je 6 Proben von 6 Tieren

Auch die Harnsäurekonzentration veränderte sich über den Probenentnahmezeitraum hinweg nicht wesentlich (vgl. Tab.21). Die Standardabweichungen waren relativ hoch. Als Ursache sind größere individuelle Unterschiede zwischen den Einzeltieren und zum Teil beträchtliche Schwankungen von einem Probenentnahmetermin zum nächsten zu nennen. Als Spitzenwerte konnten bei den HF-Kühen $136.65 \mu\text{mol/l}$, bei den DFV-Kühen $148.83 \mu\text{mol/l}$ verzeichnet werden.

Die Harnsäurekonzentration der Kuh 214 zeigten mit $40.04 \pm 9.53 \mu\text{mol/l}$ keinen deutlichen Unterschied zur HF-Gruppe.

Tabelle 21: Harnsäurekonzentration in den Milchproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	61.41 $\pm$ 30.12	12	65.11 $\pm$ 20.34	6
2	77.77 $\pm$ 33.27	12	77.64 $\pm$ 30.44	6
3	64.91 $\pm$ 26.01	12	79.26 $\pm$ 26.23	6
4	64.63 $\pm$ 20.64	12	74.34 $\pm$ 31.16	6
5	58.30 $\pm$ 17.78	12	77.96 $\pm$ 32.19	6
6	60.48 $\pm$ 27.52	12	65.95 $\pm$ 23.57	6

Die Harnsäurekonzentration zeigte keinerlei Abhängigkeit von der Milchleistung, womit das im Vergleich zu den vorher besprochenen Parametern unterschiedliche Verhalten verständlich wird. Dagegen bestand zwischen der täglichen Harnsäureausscheidung über die Milch und der Milchproduktion eine Abhängigkeit (vgl. Abb.16). Anscheinend wurde die Höhe der Harnsäureausscheidung nur von der Milchproduktion bestimmt.

Für die Harnsäurekonzentration in den Plasmaproben der Holstein-Friesian-Kühe ergab sich ein mittlerer Wert von $32.21 \pm 9.45 \mu\text{mol/l}$. Die Konzentration bei den Deutsch-Fleckvieh-Kühen wurde zu $35.95 \pm 9.57 \mu\text{mol/l}$ gemessen. Der Rassenunterschied war nicht signifikant (vgl. Tab.20). Die Plasmakonzentration lag im Vergleich zu den Werten der Milchproben bei beiden Rassen um den Faktor 2 niedriger.

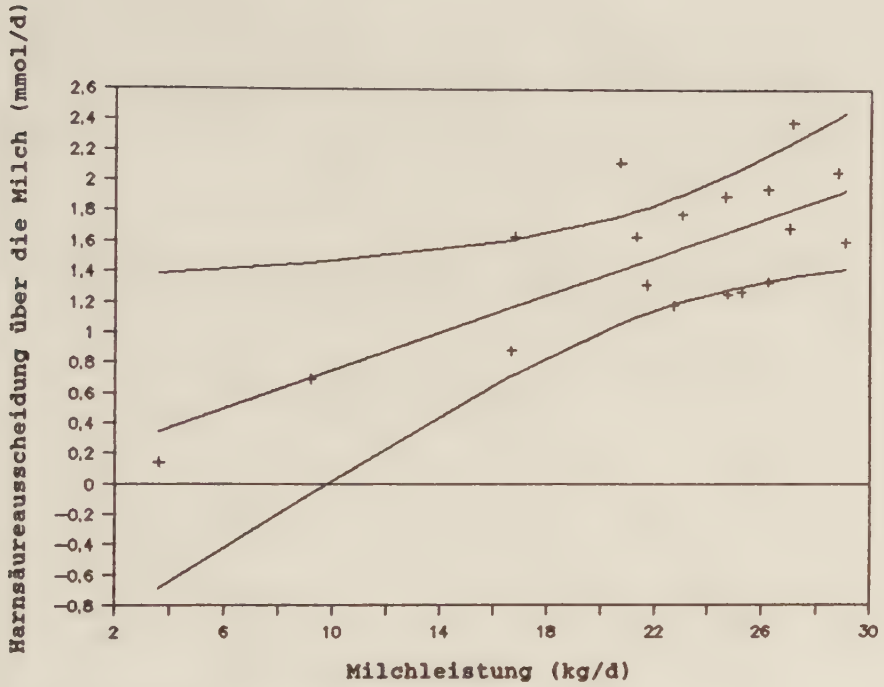


Abb. 16: Harnsäureausscheidung über die Milch in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = 0.126 + 0.062 x$$

$$r = 0.760$$

$$p < 0.01$$

$$n = 18$$

Die Harnsäurekonzentration in den Plasmaproben blieb über den Zeitraum der Probenentnahme sehr konstant (vgl. Tab.22). Es zeigten sich wie schon bei den Milchproben individuelle Schwankungen, die sich in Form größerer Standardabweichungen äußerten.

Tabelle 22: Harnsäurekonzentration in den Plasmaproben der HF - und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	33.43 ± 6.24	11	38.56 ± 9.52	5
2	30.44 ± 7.20	12	36.16 ± 10.98	6
3	29.81 ± 6.33	11	34.16 ± 13.09	6
4	33.56 ± 7.36	11	36.80 ± 5.88	6
5	33.87 ± 14.31	12	34.17 ± 4.73	6
6	32.16 ± 12.86	11	36.31 ± 13.61	6

Die Maximalwerte betrugen bei den HF-Kühen $63.76 \mu\text{mol/l}$ (Kuh 210) und $61.63 \mu\text{mol/l}$ (Kuh 47) bei den DFV-Kühen. Die HF-Kuh 214 erreichte in der ersten Probe noch in etwa den für die restlichen HF-Kühe berechneten Mittelwert, danach fielen die Werte auf $17.30 \pm 7.83 \mu\text{mol/l}$ ab. Es schien keine allzu deutliche Abhängigkeit der Konzentration in der Milch von der Plasmakonzentration zu bestehen (vgl. Abb.17), wie der verhältnismäßig kleine Wert des Korrelationskoeffizienten vermuten ließ ($r=0.514$).

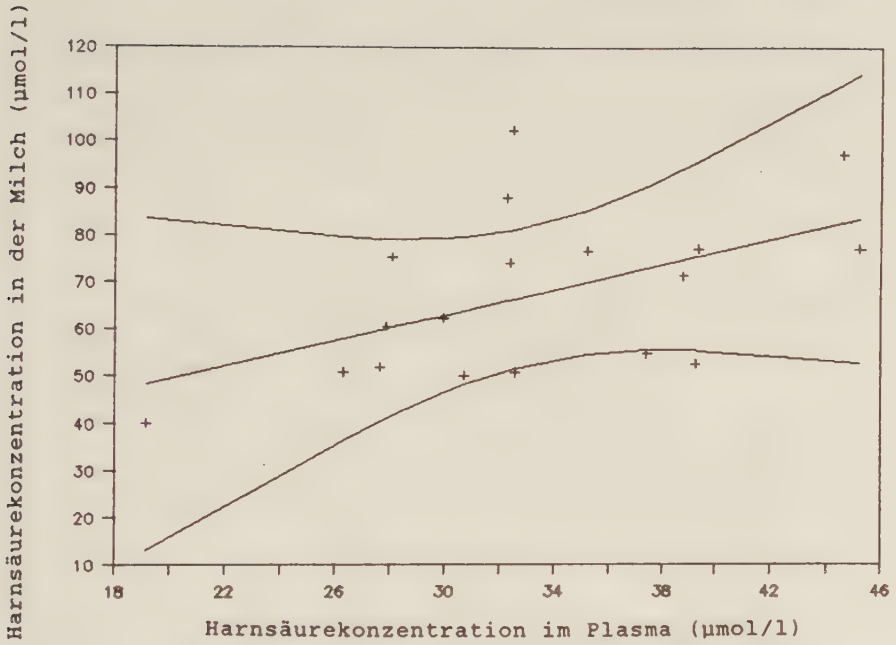


Abb. 17: Vergleich der Harnsäurekonzentration in Milch- und Plasmaproben

$$y = 22.338 + 1.357 x$$

$$r = 0.514$$

$$p < 0.05$$

$$n = 18$$

3.2.3. Allantoin

Die mittlere Allantoinkonzentration bei den Holstein-Friesian-Kühen betrug $482.05 \pm 84.52 \mu\text{mol/l}$. Für die Deutsch-Fleckvieh-Kühe ergab sich eine nicht signifikant niedrigere Konzentration von $458.29 \pm 64.55 \mu\text{mol/l}$ (vgl. Tab.23).

Tabelle 23: Allantoinkonzentration in Milch- und Plasmaproben von HF- und DFV-Kühen

	HF ^a	DFV ^b	Rassen- unterschied
Milch $\mu\text{mol/l}$	482.05 ± 84.52	458.29 ± 64.55	n.s.
Plasma $\mu\text{mol/l}$	392.18 ± 78.33	331.11 ± 64.51	n.s.
Quotient Milch/ Plasma	1.23	1.38	

n.s. = nicht signifikant

a= Mittelwert aus je 6 Proben von 12 Tieren

b= Mittelwert aus je 6 proben von 6 Tieren

Die Allantoinkonzentration in den Milchproben blieb über den Zeitraum der Probenentnahme bei den HF- und DFV-Kühen konstant (vgl. Tab.24).

Die an verschiedenen Probenentnahmetagen relativ hohen Standardabweichungen sind bei der HF-Gruppe auf die Werte der Kuh 209 zurückzuführen, die an den entsprechenden Tagen Spitzenwerte von $743.93 \mu\text{mol/l}$ bzw. $727.28 \mu\text{mol/l}$ aufwies.

Bei der DFV-Gruppe betrug der Spitzenwert am ersten Tag $606.22 \mu\text{mol/l}$ (Kuh 52).

Tabelle 24: Allantoinkonzentration in den Milchproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	460.60 $\pm$ 51.78	12	460.99 $\pm$ 101.16	6
2	491.27 $\pm$ 72.81	12	438.44 $\pm$ 45.26	6
3	491.99 $\pm$ 111.32	11	464.97 $\pm$ 35.36	6
4	486.51 $\pm$ 106.90	12	490.59 $\pm$ 69.98	6
5	463.57 $\pm$ 86.64	12	459.38 $\pm$ 64.56	6
6	500.74 $\pm$ 75.59	11	430.79 $\pm$ 63.16	5

Die Allantoinkonzentration der HF-Kuh 214 lag über den gesamten Probenentnahmezeitraum an der unteren Grenze der Werte der HF-Gruppe. Diese Werte sind nicht eindeutig auf die niedrige Milchleistung zurückzuführen, denn es konnte insgesamt kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Allantoinkonzentration und der Milchleistung gefunden werden.

Die Allantoinausscheidung hingegen war mit der Milchleistung korreliert (vgl. Abb.18).

In den Plasmaproben der Holstein-Friesian-Kühe wurde eine Allantoinkonzentration von $392.18 \pm 78.33 \mu\text{mol/l}$ gefunden. Dagegen ergab sich für die Deutsch-Fleckvieh-Kühe mit $331.11 \pm 64.51 \mu\text{mol/l}$ eine nicht signifikant

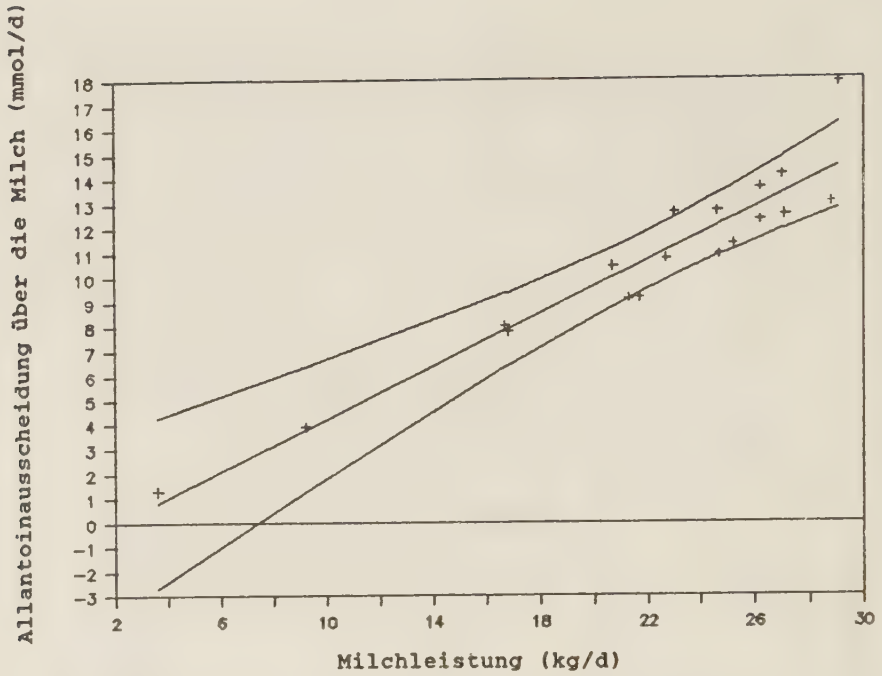


Abb. 18: Allantoinausscheidung über die Milch in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = -1.119 + 0.535 x$$

$$r = 0.949$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

niedrigere Konzentration (vgl. Tab.23).

Auch die Allantoinkonzentration im Plasma blieb während der Probenentnahmen konstant (vgl. Tab.25). Die Spitzenwerte betrugen 577.29 $\mu\text{mol/l}$ bei den HF-Kühen (Kuh 209, vierter Tag) und 515,14 $\mu\text{mol/l}$ (Kuh 50, dritter Tag).

Die Konzentration der HF-Kuh 214 fiel auch hier wegen ihrer geringen Höhe auf. Der Mittelwert betrug $246.95 \pm 48.31 \mu\text{mol/l}$.

Tabelle 25: Allantoinkonzentration in den Plasmaproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	391.84 ± 80.07	11	319.20 ± 70.10	6
2	399.88 ± 75.90	12	330.56 ± 56.46	6
3	370.81 ± 78.72	12	336.87 ± 99.47	6
4	375.95 ± 89.25	11	326.50 ± 54.03	6
5	418.96 ± 45.53	10	343.11 ± 36.26	6
6	400.01 ± 98.86	10	330.44 ± 80.55	6

Die Allantoinkonzentration im Plasma zeigte eine positive Korrelation mit der Milchleistung (vgl. Abb.19). Dies deutet möglicherweise Zusammenhänge zwischen der Allantoinkonzentration und der auf Grund der gesteigerten Kraftfutteraufnahme bei höherer Milchleistung vermehrten mikrobiellen Eiweißsynthese an.

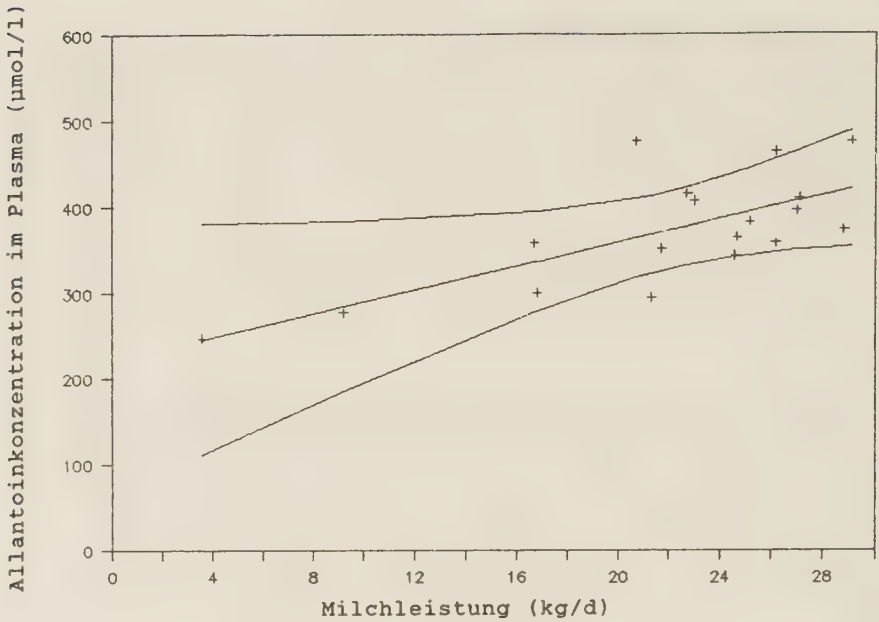


Abb. 19: Allantoinkonzentration im Plasma in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = 221.179 + 6.862 x$$

$$r = 0.705$$

$$p < 0.01$$

$$n = 18$$

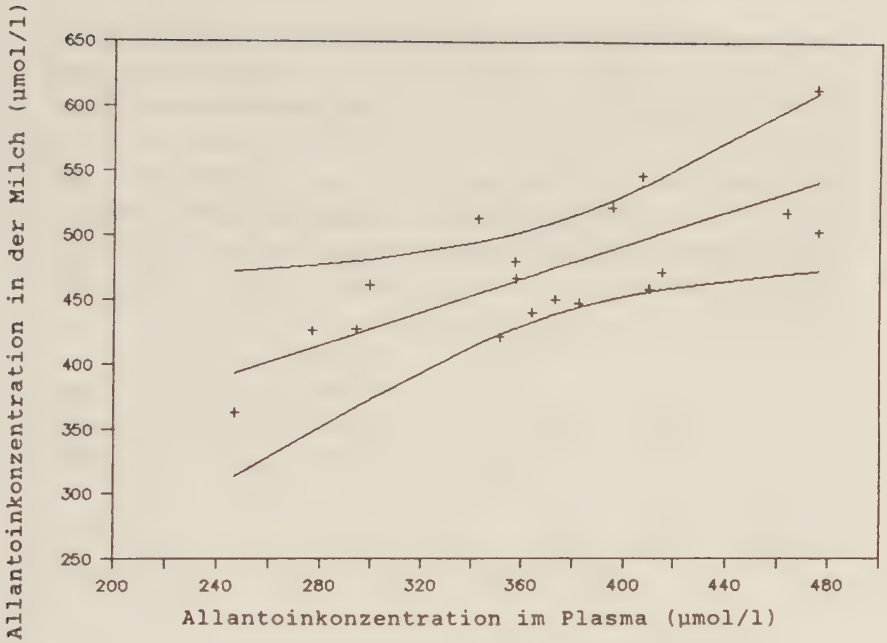


Abb. 20: Allantoinkonzentration in der Milch in Abhängigkeit von der Allantoinkonzentration im Plasma

$$y = 231.611 + 0.653 x$$

$$r = 0.758$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

Beim Vergleich der Milch- und Plasmawerte zeigte sich, daß mit steigender Allantoinkonzentration im Plasma auch die Konzentration in den Milchproben zunahm (vgl. Abb.20).

Dies war auch zu erwarten, da das Allantoin in der Milch auf Grund fehlender Enzymaktivität im Milchdrüsengewebe wohl ausschließlich über den Blutweg dorthin gelangt.

3.3. Vergleich der Gesamtpyrimidine und -purine

In den Milchproben lagen die Pyrimidinverbindungen in einer Konzentration von 528.78 bzw. 488.04 $\mu\text{mol/l}$ (DFV) vor. Dem gegenüber stand eine Gesamtkonzentration der Purinverbindungen von 551.02 $\mu\text{mol/l}$ (HF) bzw. 536.24 $\mu\text{mol/l}$ (DFV). Das bedeutete, daß die Konzentration der Purinverbindungen in der Milch um den Faktor 1.04 (HF) bzw. 1.10 (DFV) höher war als die der Pyrimidinverbindungen (vgl. Tab.26).

Den Hauptanteil an dieser Gesamtkonzentration hatte bei den Pyrimidinverbindungen die Orotsäure (OS). Aber auch die Uridinkonzentration (U) erreichte eine nennenswerte Höhe. Bei den Purinverbindungen entfiel der weitaus größte Teil auf Allantoin (A). Die zweite Position wurde von der Harnsäure (HS) eingenommen.

Tabelle 26: Vergleich der Pyrimidin- und Purinkonzentrationen in den Milchproben

Rasse	Pyrimidine				
	Gesamt $\mu\text{mol/l}$	OS $\mu\text{mol/l}$	U $\mu\text{mol/l}$	C $\mu\text{mol/l}$	P $\mu\text{mol/l}$
HF	528.78	456.84	61.89	5.64	4.41
DFV	488.04	426.87	53.25	4.16	3.76
Rasse	Purine				
	Gesamt $\mu\text{mol/l}$	A $\mu\text{mol/l}$	HS $\mu\text{mol/l}$	HX $\mu\text{mol/l}$	
HF	551.02	482.05	64.58	4.39	
DFV	536.24	458.29	73.38	4.57	

In den Plasmaproben lagen die Verhältnisse gänzlich anders. Hier belief sich die Gesamtpyrimidinkonzentration auf 19.05 $\mu\text{mol/l}$ (HF) bzw. 15.01 $\mu\text{mol/l}$ (DFV). Im

Gegensatz dazu lagen die Konzentration der Purinverbindungen bei 425.89 $\mu\text{mol/l}$ (HF) bzw. 368.46 $\mu\text{mol/l}$. Damit lag die Purinkonzentration um den Faktor 22.36 (HF) bzw. 24.55 (DFV) höher (vgl. Tab.27).

Tabelle 27: Vergleich der Pyrimidin- und Purinkonzentration in den Plasmaproben

Rasse	Pyrimidine				
	Gesamt $\mu\text{mol/l}$	OS $\mu\text{mol/l}$	U $\mu\text{mol/l}$	C $\mu\text{mol/l}$	P $\mu\text{mol/l}$
HF	19.05	< 1.0	6.39	5.55	6.11
DFV	15.01	< 1.0	4.81	3.58	5.62
Rasse	Purine				
	Gesamt $\mu\text{mol/l}$	A $\mu\text{mol/l}$	HS $\mu\text{mol/l}$	HX $\mu\text{mol/l}$	
HF	425.89	392.18	32.21	- 1.5	
DFV	368.46	331.11	35.95	- 1.4	

An den Ergebnissen der Plasmaproben war vor allem erstaunlich, daß die Konzentration der Purinmetaboliten so deutlich höher war, als die der Pyrimidinverbindungen. Dieses Mißverhältnis im Plasma ist auf grundsätzliche Unterschiede zwischen Purin- und Pyrimidinstoffwechsel zurückzuführen. Vorallem sind aber Unterschiede zwischen Körper- und Milchdrüsenstoffwechsel bei Purinen und Pyrimidinen zu verzeichnen. Im Vergleich zu den Plasmawerten war sehr auffällig, daß in den Milchproben fast ausgeglichene Verhältnisse vorlagen. Die Gründe dafür dürften im Laktosestoffwechsel zu suchen sein, im Zuge dessen größere Mengen Uridin anfallen.

3.4. Andere Verbindungen

3.4.1. Kreatinin

Die Kreatininkonzentration in der Milch der Holstein-Friesian-Kühe betrug $87.45 \pm 20.99 \mu\text{mol/l}$. Dagegen ergab sich für die Deutsch-Fleckvieh-Kühe mit $106.61 \pm 21.95 \mu\text{mol/l}$ eine signifikant ($p < 0.01$) höhere Konzentration (vgl. Tab.28).

Tabelle 28: Kreatininkonzentration in Milch- und Plasmaproben von HF- und DFV-Kühen

	HF ^a	DFV ^b	Rassen- unterschied
Milch $\mu\text{mol/l}$	87.45 ± 20.99	106.61 ± 21.95	$p < 0.01$
Plasma $\mu\text{mol/l}$	86.93 ± 12.30	108.47 ± 16.73	$p < 0.01$

a= Mittelwert aus je 6 Proben von 12 Tieren

b= Mittelwert aus je 6 proben von 6 Tieren

Die Kreatininkonzentration in den Milchproben veränderte sich über den Probenentnahmezeitraum kaum (vgl. Tab.29). Sie zeigte allerdings bei beiden Rassen zum Teil größere Schwankungen von einem Probenentnahmezeitpunkt zum nächsten - zum Beispiel am ersten Tag $113.91 \mu\text{mol/l}$ und $69.98 \mu\text{mol/l}$ am zweiten Probenentnahmetag (Kuh 51).

Die HF-Kuh 214 lag bezüglich der Kreatininkonzentration im Rahmen der restlichen HF-Kühe.

Die Kreatininausscheidung stieg mit zunehmender Milchproduktion (vgl. Abb.21) obwohl die Kreatininkonzentration eine eher gegenteilige Tendenz zeigte.

Tabelle 29: Kreatininkonzentration in den Milchproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	90.54 ± 24.66	12	115.77 ± 22.98	6
2	97.75 ± 24.89	12	103.98 ± 26.30	6
3	79.46 ± 12.51	12	97.03 ± 21.65	6
4	85.34 ± 21.02	12	116.91 ± 14.36	6
5	86.01 ± 21.74	12	99.27 ± 25.61	6
6	85.63 ± 18.42	12	106.72 ± 20.29	6

Die Kreatininkonzentration in den Plasmaproben (vgl. Tab.28) der Holstein-Friesian-Kühe lag bei $86.93 \pm 12.30 \mu\text{mol/l}$. Die Konzentration in den Proben der Deutschen-Fleckviehs erreichte eine Höhe von $108.47 \pm 16.73 \mu\text{mol/l}$ und lag damit signifikant höher ($p < 0.01$).

Die Kreatininkonzentration im Plasma zeigte einen sehr konstanten Verlauf (vgl. Tab.30) mit relativ niedrigen Standardabweichungen, die hauptsächlich darauf beruhten, daß die Tiere sich auf unterschiedlichen Niveaus befanden. Die Werte der HF-Kuh 214 fielen durch ihre Höhe auf. Sie lagen über den gesamten Beobachtungszeitraum außerhalb der Streubreite der Werte der HF-Gruppe. Der Mittelwert betrug $121.99 \pm 16.43 \mu\text{mol/l}$.

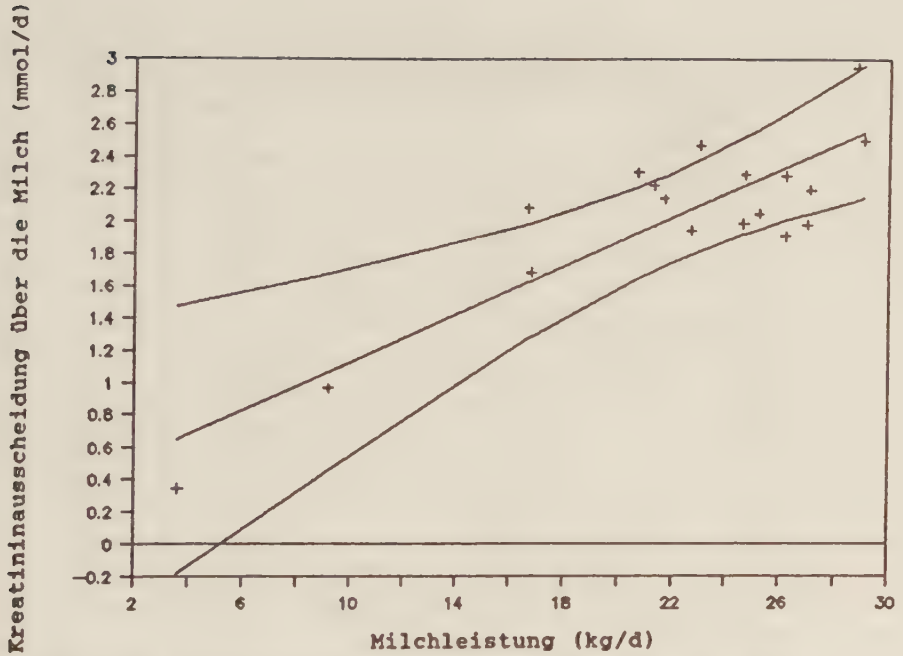


Abb. 21: Kreatininausscheidung in der Milch in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = 0.377 + 0.075 x$$

$$r = 0.870$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

Tabelle 30: Kreatininkonzentration in den Plasmaproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	93.05 ± 21.70	11	108.17 ± 23.12	5
2	86.98 ± 8.90	12	101.03 ± 17.72	6
3	83.21 ± 10.88	10	112.97 ± 13.87	6
4	84.53 ± 11.12	10	106.13 ± 17.53	6
5	86.54 ± 8.13	11	110.18 ± 21.37	6
6	86.66 ± 7.74	10	112.29 ± 9.43	6

Betrachtet man in diesem Zusammenhang die Abbildung 22, so wird deutlich, daß mit steigender Milchleistung die Kreatininkonzentration im Plasma deutlich abfiel.

Möglicherweise bestehen hier Zusammenhänge mit dem höheren Gewicht bei niedrigen Milchleistung oder der vermehrten Flüssigkeitsaufnahme der Tiere bei steigender Milchleistung.

Beim Vergleich der Milch- und Plasmawerte fiel vor allem auf, daß sie relativ ähnlich waren. Dies könnte unter Umständen ein Anhaltspunkt dafür sein, daß der Übergang des Kreatinins aus dem Plasma in die Milch ein einfacher oder erleichterter Diffusionsvorgang bis zum Konzentrationsausgleich ist.

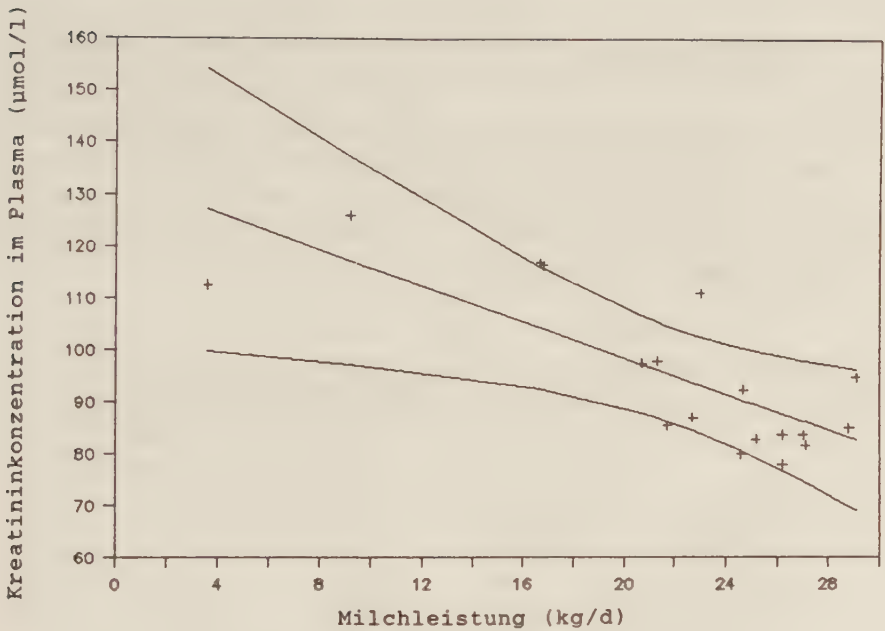


Abb. 22: Kreatininkonzentration im Plasma in Abhängigkeit von der Milchleistung

$$y = 133.251 - 1.737 x$$

$$r = - 0.779$$

$$p < 0.001$$

$$n = 18$$

3.4.2. Hippursäure

Die mittlere Hippursäurekonzentration in den Milchproben der Holstein-Friesian-Kühe betrug $123.84 \pm 36.65 \mu\text{mol/l}$ (vgl. Tab.31). Beim Deutschen-Fleckvieh war die Konzentration dagegen mit $165.84 \pm 33.98 \mu\text{mol/l}$ signifikant höher ($p < 0.001$).

Tabelle 31: Hippursäurekonzentration in Milch- und Plasmaproben von HF- und DFV-Kühen

	HF ^a	DFV ^b	Rassen- unterschied
Milch $\mu\text{mol/l}$	123.84 ± 36.65	165.84 ± 33.98	$p < 0.001$
Plasma $\mu\text{mol/l}$	77.49 ± 22.59	106.12 ± 26.32	$p < 0.01$

a= Mittelwert aus je 6 Proben von 12 Tieren

b= Mittelwert aus je 6 Proben von 6 Tieren

Die Hippursäurekonzentration zeigte keinen so stabilen Verlauf wie die bereits besprochenen Parameter (vgl. Tab.32). Signifikante Unterschiede wurden aber zu keinem Zeitpunkt erreicht. Die zum Teil relativ hohen Standardabweichungen beruhten hauptsächlich darauf, daß die Werte von einem Termin zum nächsten starke Schwankungen aufwiesen. Als Extremwerte kamen bei beiden Rassen Konzentrationen von über $200 \mu\text{mol/l}$ bzw. unter $100 \mu\text{mol/l}$ vor.

Die Hippursäurekonzentration der Plasmaproben (vgl. Tab.31) der Holstein-Friesian-Kühe betrug $77.49 \pm 22.59 \mu\text{mol/l}$. Mit $106.12 \pm 26.32 \mu\text{mol/l}$ lag die Konzentration

Tabelle 32: Hippursäurekonzentration in den Milchproben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahmezeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	126.44 ± 45.13	12	173.77 ± 32.07	6
2	132.86 ± 29.37	12	172.41 ± 45.03	6
3	114.15 ± 45.79	12	179.70 ± 36.12	6
4	135.83 ± 26.91	12	151.62 ± 35.31	6
5	122.69 ± 24.50	11	163.75 ± 30.80	6
6	110.98 ± 41.79	12	154.39 ± 27.79	6

beim Deutschen-Fleckvieh signifikant höher ($p < 0.01$). Die Plasmakonzentrationen lagen demnach deutlich niedriger als die Milchkonzentrationen.

Das Verlaufsbild der Hippursäurekonzentration im Plasma gestaltete sich ähnlich dem der Milchproben (vgl. Tab.33). Allerdings befanden sich die Kühe bezüglich der Plasmakonzentrationen zum Teil auch auf unterschiedlichem Niveau. Zum Beispiel betrug die Hippursäurekonzentration bei Kuh 51 im Mittel $75.85 \pm 21.70 \mu\text{mol/l}$, bei Kuh 50 dagegen $124.07 \pm 29.07 \mu\text{mol/l}$. Bei den HF-Kühen lagen ähnliche Unterschiede vor.

Tabelle 33: Hippursäurekonzentration in den Plasma-
proben der HF- und DFV-Kühe über den Probenentnahme-
zeitraum

Proben- entnahme- tag	HF		DFV	
	$\mu\text{mol/l}$	n	$\mu\text{mol/l}$	n
1	66.51 ± 26.32	11	112.86 ± 33.76	5
2	78.36 ± 24.72	12	102.80 ± 30.49	6
3	84.04 ± 20.19	10	101.46 ± 17.22	6
4	78.37 ± 19.83	11	104.27 ± 35.53	6
5	77.34 ± 19.55	12	97.84 ± 13.57	6
6	81.20 ± 25.39	10	118.59 ± 27.68	6

4. Diskussion

Im allgemeinen konnte an Hand der Untersuchungen festgestellt werden, daß es hinsichtlich der Purin- bzw. Pyrimidinkonzentration Unterschiede zwischen den DFV- und HF-Kühe gibt. Die Gründe hierfür liegen zum Teil in den rassebedingten Unterschieden in der Milchleistung, da verschiedene Verbindungen hauptsächlich über den Milchdrüsenstoffwechsel beeinflußt werden. Auf der anderen Seite ist die leistungsbezogene Fütterung der Milchrinder für die Rassenunterschiede bei bestimmten Verbindungen verantwortlich.

Die Ergebnisse der Blut- und Milchuntersuchungen können mit der Purin- und Pyrimidinbasenmenge (vgl. 1.4.) verglichen werden, die entsprechend der Fütterung (vgl. 2.1.) nach unseren Berechnungen aus dem Verdauungsapparat resorbiert worden ist. Zu der Berechnung ist anzumerken, daß Roth et al. (1986) eine Schätzung der Resorptionsrate ablehnen. Auf der anderen Seite zeigten aber die Untersuchungen von McAllan (1980) das allmähliche Verschwinden der Nucleinsäurenabbauprodukte - Basen und Nucleoside - im Verlauf der Dünndarmpassage, indem er den Dünndarm in mehrere Segmente einteilte und den Inhalt analysierte. Auf Grund dieser Ergebnisse ordnete er verschiedenen Verbindungen bestimmte Resorptionsraten (vgl. S.7) zu. Auch von Antoniewicz et al. (1980) und Laurent et al. (1983) wurden Resorptionsraten von etwa 80% vorausgesetzt.

Die Beziehung zwischen der Allantoinausscheidung über die Milch und der resorbierten Purinbasenmenge wurde in Abbildung 23 dargestellt. Es ergab sich eine sehr enge Korrelation ($r=0.942$). Dieses Ergebnis ist nicht überraschend, wenn man sich den Stoffwechselweg der Purine im Organismus vergegenwärtigt. Hier stellt das

Allantoin das Endprodukt dar, das nicht mehr weiterverwendet werden kann und folglich ausgeschieden werden muß (Murray, 1971; Fox, 1974; Watts, 1981; Zöllner, 1982), soweit keine Möglichkeit des Recyclings über den Speichel oder die Sekretion in den Pansen besteht.

Die Bestimmung von Allantoin in Milchproben würde sich besonders eignen um die Nucleinsäureproduktion der Pansenmikroorganismen und damit auch die mikrobielle Proteinbiosynthese zu erfassen., da nach derzeitigem Kenntnisstand in der Milchdrüse keine Uricaseaktivität

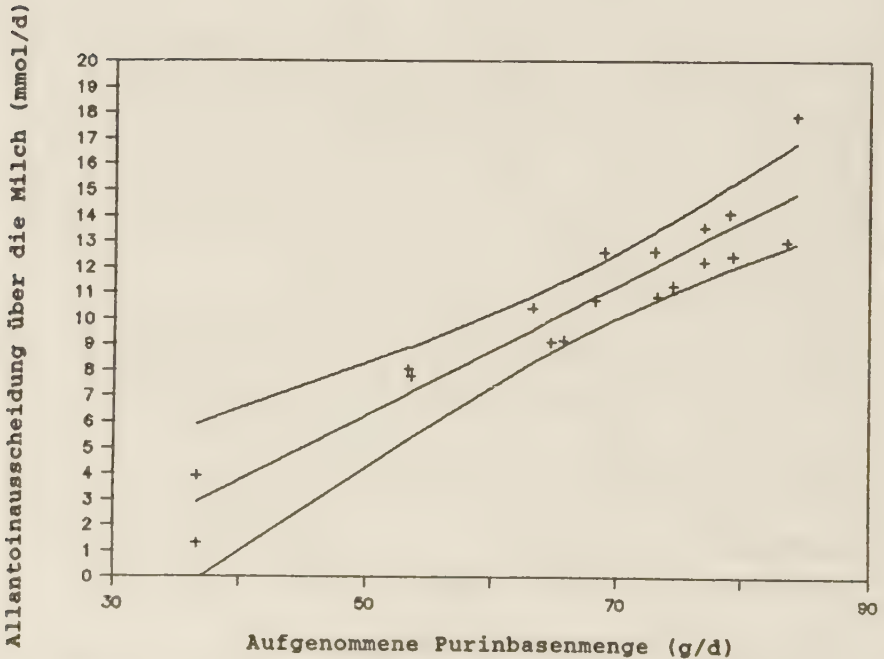


Abb.23: Allantoinausscheidung über die Milch in Beziehung zur Menge der resorbierten Purinbasen

$$y = -6.348 + 0.252x \quad r = 0.942 \quad p < 0.001 \quad n = 18$$

zu verzeichnen ist. Damit kann man annehmen, daß das gesamte Allantoin auf dem Blutweg in die Milchdrüse gelangt sein muß. Dies wird einerseits durch die enge Beziehung zwischen der Plasmakonzentration und dem Allantoingehalt der Milch unterstützt (vgl. Abb.20). Andererseits zeigt die Allantoinkonzentration im Plasma mit einem Korrelationskoeffizienten von $r=0.694$ ebenfalls eine deutliche Abhängigkeit von der resorbierten Purinbasenmenge.

Ausgehend von den Berechnungen von Kirchgessner et al. (1985), wonach über die Milch etwa 6%-7% des insgesamt ausgeschiedenen Allantoins den Organismus verlassen, ist es möglich die Gesamtallantoinausscheidung zu ermitteln. Den endogenen Anteil kann man über Hochrechnung der von Giesecke et al. (1984) an Schafen ermittelten Werte schätzen. Danach erhält man 4.62 g/d endogene renale Allantoinausscheidung für eine Kuh mit 550kg Körpergewicht. Das entspräche einer Gesamtausscheidung von endogenem Allantoin von rund 4.91 g/d. Allerdings stellt sich hier die Frage, inwieweit es zulässig ist, die an Schafen ermittelten Werte unter Bezugnahme auf das Körpergewicht auf Rinder umzurechnen. Es wäre interessant, dieser Frage in speziellen Untersuchungen nachzugehen.

Zieht man den endogenen Anteil dennoch in Betracht, dann tauchen rund 34% der aufgenommenen Purinbasen in Form von Allantoin in den Ausscheidungen wieder auf. Dieser Wert paßt gut zu denen, die von Antoniewicz et al. (1980) an Schafen berechnet wurden. Selbst wenn man bedenkt, daß die Resorptionsrate mit 82% möglicherweise zu hoch angesetzt sein könnte, würde das bedeuten, daß ein erheblicher Teil der aufgenommenen Purinbasen im Organismus verwertet wird. Dies erscheint auch sinnvoll, da im anderen Fall dem Organismus große Verluste an Energie und vor allem an Stickstoff

entstehen würden, die gerade im Wiederkäuerorganismus, der eine ausgesprochen intensive Wiederverwertung von Stickstoff (Boda et al., 1986) praktiziert, nicht gut vorstellbar sind. Allerdings sollten hier auch Ergebnisse erwähnt werden, wonach im menschlichen Organismus keine Verwertung exogener Purine stattfindet (Löffler et al., 1982). Es scheint sich hier also ein Artenunterschied abzuzeichnen, der durch entsprechende Versuche zu bestätigen wäre.

Die Beziehung zwischen der Harnsäureausscheidung über die Milch und der Aufnahme von Purinbasen aus dem Verdauungsapparat ist durch einen Korrelationskoeffizienten von $r=0.723$ gekennzeichnet. Im Vergleich zum Allantoin also eine deutlich schwächere Beziehung.

Die Gründe hierfür liegen vermutlich darin, daß die Harnsäure in der Milch zum Teil aus dem Eigenstoffwechsel der Milchdrüse stammt. Da in der Milchdrüse vermutlich kein weiterer Abbau der Harnsäure zu Allantoin stattfindet, stellt diese somit das Endprodukt des Purinabbaus dar.

Die Enzyme, die für den Purinabbau bis zur Harnsäure erforderlich sind, scheinen in der Milchdrüse vorhanden zu sein. Insbesondere die Aktivität der Xanthinoxidase (EC 1.2.3.2) wurde ziemlich eingehend erforscht (Cerbulis et al., 1977; Jarrasch et al., 1981; Sieber, 1983; Mather et al., 1983).

Ein weiterer Hinweis auf die Harnsäureentstehung in der Milchdrüse ist der um den Faktor 2 niedrigere Harnsäurespiegel im Plasma (vgl. Tab.20). Außerdem zeigte der Plasmaspiegel der Harnsäure nur eine sehr schwache Beziehung zur Harnsäurekonzentration in der Milch (vgl. Abb.17).

Ein Zusammenhang zwischen der Harnsäurekonzentration im Plasma und der Purinbasenresorption ergab sich nicht. Möglicherweise ist dies darauf zurückzuführen, daß

Harnsäure im Plasma zum Teil in proteingebundener Form transportiert wird (Ramsay et al., 1977)

Die Hypoxanthinausscheidung über die Milch weist zur resorbierten Purinbasenmenge einen Korrelationskoeffizienten von $r=0.719$ auf. Wie schon für die Harnsäureausscheidung besprochen (s.o.), scheint auch die Hypoxanthinausscheidung mehr vom Purinstoffwechsel der Milchdrüse beeinflusst werden als von der resorbierten Purinbasenmenge. Deshalb ist eine Eignung als Kriterium für die mikrobielle Eiweißsynthese im Pansen unwahrscheinlich.

Die Beziehung zwischen der Cytidinausscheidung über die Milch und der Resorption von Pyrimidinbasen ist sehr eng ($r=0.940$). Möglicherweise ist das Cytidin also bei den Pyrimidinverbindungen ein guter Indikator für die Nucleinsäurenresorption aus dem Verdauungsapparat. Gestützt wird diese Annahme von mehreren Seiten. Erstens ist die Beziehung zwischen der resorbierten Pyrimidinbasenmenge und der Cytidinkonzentration mit $r=0.713$ ebenfalls relativ eng. Des weiteren besteht eine deutliche Abhängigkeit ($r=0.832$) der Cytidinkonzentration in der Milch von der Konzentration im Plasma (vgl. Abb.11). Um allerdings wirklich beurteilen zu können, inwieweit sich das Cytidin als Indikator eignet, müßte erst geklärt werden, wie hoch der Anteil der Milchdrüsensynthese an der Cytidinausscheidung über die Milch ist. Außerdem erscheint es einigermaßen erstaunlich, daß Cytidin im Organismus dem Abbau bzw. der Verwertung entzogen sein sollte.

Die Beziehung zwischen der Pseudouridinausscheidung über die Milch und der Pyrimidinbasenresorption war mit $r=0.945$ hochsignifikant. Die Pseudouridinkonzentration im Plasma zeigte dagegen keine signifikante Abhängigkeit.

Pseudouridin ist eine sogenannte "Seltene Base", die in allen RNA-Arten mit Ausnahme der m-RNA (Sander et al., 1984) vorkommt. Es ist ein modifiziertes Uridin und kann aus diesem Grund nicht mehr abgebaut (Schöch et al., 1977; Sander et al., 1984) oder im "salvage pathway" verwendet werden (Schöch et al., 1982). Aus diesen Gründen ist anzunehmen, daß im Milchdrüsenstoffwechsel größere Mengen an Pseudouridin anfallen müssen, da für die Milchproduktion eine enorme Eiweißsynthese nötig ist, wobei der Ort an dem diese Synthese stattfindet das Euter selbst ist. Der Zusammenhang zwischen Pseudouridin in der Milch und der Eiweißsynthese spiegelt sich in der relativ engen Beziehung zwischen der produzierten Eiweißmenge und der Pseudouridinausscheidung ($r=0.846$) wieder. Aus diesen Gründen erscheint es insgesamt unwahrscheinlich, daß die Beziehung zwischen der Pseudouridinausscheidung und der Pyrimidinbasenresorption auf einem direkten Funktionszusammenhang beruht.

Außerdem ist der Anteil der modifizierten Basen bei Bakterien gering (Schöch et al., 1977) und es wurde auch noch nicht untersucht, inwieweit Pseudouridin aus dem Dünndarm resorbiert wird.

Interessant am Pseudouridin ist außerdem, daß die Konzentration im Plasma höher liegt als diejenige der Milchdrüse (vgl. Tab.14). Das weist möglicherweise daraufhin, daß Pseudouridin nicht vom Milchdrüsengewebe aufgenommen wird.

Für die Orotsäureausscheidung ergab sich eine hochsignifikante Beziehung zur Pyrimidinbasenresorption ($r=0.904$). Es ist aber stark anzuzweifeln, ob diese Beziehung unter physiologischen Gesichtspunkten zu erklären ist. Schon in mehreren Arbeiten (Chen et al., 1971; Ahmed et al., 1978; Ehle et al., 1981; Grummer et al., 1981; Stohrer, 1987) wurde nämlich darauf hingewiesen, daß der hohe Orotsäuregehalt der Rindermilchdrüse aus dem Eigenstoffwechsel des Drüsengewebes stammt. Darauf deuten auch die sehr niedrigen Plasmawerte von rund $1 \mu\text{mol/l}$ hin (Motyl et al., 1986), die auch in der vorliegenden Untersuchung bestätigt wurden (vgl. S.31). Als Erklärung dieser Ergebnisse könnte die Umwandlung der Orotsäure in den Erythrozyten dienen. Das dafür erforderliche Enzym - Orotidylatdecarboxylase EC 4.1.1.23- wurde in den Erythrozyten des Menschen nachgewiesen (Brown et al., 1975).

Daraus folgt, daß die Orotsäure-Pyrimidinbasen-Beziehung wohl so zu verstehen ist, daß beide über ein gemeinsames Bindeglied verbunden sind. Dieses Verbindungsstück könnte die Milchleistung darstellen, von der beide Parameter entscheidend beeinflusst werden (vgl. S.3 und Abb.5).

Die Beziehung zwischen der Uridinausscheidung über die Milch und der Menge resorbierter Pyrimidinbasen war mit $r=0.861$ signifikant.

Ähnlich wie bei der Orotsäure dürfte es sich auch hier nicht um eine direkte Beziehung handeln. Zur Erklärung muß man kurz die Funktion des Uridins im Stoffwechsel der Milchdrüse beleuchten. Uridin hat hierbei eine zentrale Rolle, da es als Uridindiphosphat (UDP) an der Lactosesynthese beteiligt ist (Kuhn et al., 1980). UDP verbindet sich mit Glucosemolekülen. Diese UDP-Glucose wird anschließend in UDP-Galactose überführt und in das Innere des Golgi-Apparates transportiert (erleichterte

Transportvorgänge). Dort findet die Lactosesynthese aus UDP-Galactose und Glucose über das Enzym Lactosesynthase (EC 2.4.1.22) statt. Das anschließend freigesetzte UDP wird dephosphoryliert (Nucleosid-Diphosphatase EC 3.6.1.6) und verläßt als UMP den Golgi-Apparat.

Die Bedeutung der Lactose liegt darin, daß sie einen begrenzenden Faktor der Milchproduktion darstellt, da sie für den H_2O -Einstrom auf osmotischem Weg verantwortlich ist (Linzell u. Peaker, 1971; Rook, 1979; Keenan et al., 1985) und auf diesem Weg die Milchmenge limitiert.

Daraus folgt, daß über die Lactosesynthese sicherlich nennenswerte Mengen Uridin anfallen. Darauf aufbauend erscheint es wahrscheinlich, daß auch hier die Beziehung zwischen der resorbierten Pyrimidinmenge und der ausgeschiedenen Uridinmenge über die gemeinsame Abhängigkeit von der Milchleistung zu Stande kommt (vgl. dazu auch Abb.7).

Unterstützt wird diese Vorstellung durch den großen Unterschied zwischen der Plasma- und der Milchkonzentration des Uridins (vgl. Tab.8). Die Uridinkonzentration in der Milch liegt demnach um den Faktor 10 höher als im Plasma. Man kann deshalb wohl annehmen, daß der Gehalt im Blut nur wenig Einfluß auf die Uridinkonzentration in der Milch hat. Für den anderen Fall, müßte man annehmen, daß das Uridin aus dem Blut entgegen einem sehr hohen Konzentrationsgefälle in die Milchdrüse transportiert wird, wobei anzumerken ist, daß zum Beispiel Allantoin entgegen dem Konzentrationsgefälle transportiert wird. Allerdings ist der Konzentrationsunterschied hier im Vergleich zum Uridin gering (vgl. Tab.23). Es gibt auch keine Hinweise dafür, daß die Uridinkonzentration im arteriellen Blut, das zur Milchdrüse fließt um so viel

höher liegt als die bei der vorliegenden Untersuchung erfaßte Konzentration im venösen Kopfblood.

Dagegen besteht eine enge Beziehung zwischen der Orotsäure- und der Uridinausscheidung ($r=0.805$). Von Robinson et al. (1974) wurde darauf hingewiesen, daß die Orotsäurekonzentration möglicherweise im Sinne einer Produkthemmung der Orotidin-5'-Phosphat-Decarboxylase durch Uridin-5'-Phosphat zu verstehen ist.

Kreatinin ist ein Metabolit des Muskelstoffwechsels. Es wird dort als Kreatinphosphat im Energiestoffwechsel der Zelle eingesetzt (Karlson, 1980). Ein enger Zusammenhang zwischen dem Körpergewicht und der Kreatininausscheidung wurde von Topps u. Elliot (1967) festgestellt. Da es ein relativ konstanter Metabolit ist, der nach Biddle et al. (1975) keine Abhängigkeit von der Stickstoffversorgung über die Nahrung zeigt, kann es als Bezugsgröße verwendet werden. Deshalb war die Untersuchung der Kreatininausscheidung von allgemeinem Interesse.

Hippursäure wird in der Leber durch Konjugation von Benzoessäure mit Glycin gebildet (Gateley et al., 1977; Scheline, 1978). Benzoessäure wird besonders von Pflanzenfressern in größeren Mengen aufgenommen, da sie in pflanzlichem Material vorkommt. Die Bestimmung von Hippursäure könnte somit eventuell ein Kriterium für die Rohfaserverdauung sein.

Abschließend lassen sich nachfolgende Schlußfolgerungen ziehen:

Die Allantoinausscheidung über die Milchdrüse stellt ein gutes Maß für die Purinbasenresorption aus dem Verdauungsapparat und damit auch für die mikrobielle Eiweißsynthese dar.

Vermutlich wird ein Großteil der resorbierten Purinbasen im Organismus weiterverwertet.

Die Harnsäure- und Hypoxanthinausscheidung über die Milch wird hauptsächlich vom Purinstoffwechsel der Milchdrüse beeinflusst.

Die Cytidinausscheidung über die Milch und die Konzentration im Plasma scheinen Kriterien für die Menge der resorbierten Pyrimidinbasen zu sein.

Die Orotsäure und Uridin, Pseudouridin, entstammen nahezu vollständig bzw. größtenteil dem Eigenstoffwechsel der Milchdrüse und sind deshalb zwar zur Beurteilung der mikrobiellen Eiweißsynthese nicht einsetzbar, sie könnten aber als Kriterien des Milchdrüsenstoffwechsels eingesetzt werden.

Aus tierärztlicher Sicht eröffnet sich die Möglichkeit der Beurteilung der Fütterung bzw. der Pansenverdauung durch Untersuchung des Allantoingehaltes von Milch- bzw. Plasmaproben im Sinne eines Herden-Screenings. Ob Uridin zur Beurteilung der Stoffwechselaktivität des Euters hinsichtlich der Lactose genutzt werden kann, oder ob Pseudouridin Aussagen über die Eiweißsynthese in der Milchdrüse zuläßt, müßte durch weitere Untersuchungen bewiesen werden.

5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde untersucht, welche Pyrimidin- bzw. Purinverbindungen und deren Abbauprodukte in Plasma und Milch als Kriterien für die mikrobielle Eiweißsynthese im Pansen dienen könnten. Zu diesem Zweck wurde die Menge der Purin- und Pyrimidinbasen, die aus dem Dünndarm resorbiert werden, berechnet und mit den Plasmakonzentrationen bzw. den Ausscheidungsmengen über die Milch verglichen. Daneben wurde der Frage nachgegangen, welche Verbindungen Aussagen hinsichtlich des Milchdrüsenstoffwechsels erlauben. Als Analysenverfahren wurde die HPLC-Technik eingesetzt.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Allantoin ist die vielversprechendste Verbindung zur Beurteilung der Eiweißsynthese im Pansen. Es zeigt hochsignifikante Korrelationen zur resorbierten Purinbasenmenge sowohl hinsichtlich der Plasmakonzentration ($r=0.694$) als auch der über die Milch ausgeschiedenen Menge ($r=0.942$).
2. Über die Berechnung der insgesamt ausgeschiedenen Allantoinmenge läßt sich vermuten, daß ein Teil der resorbierten Purinverbindungen im Organismus weiterverwertet wird.
3. Die Harnsäure- und Hypoxanthinmengen, die über die Milch ausgeschieden werden, entstammt hauptsächlich dem Purinstoffwechsel der Milchdrüse.

4. Die Eignung des Cytidin, dessen Plasmakonzentration ($r=0.713$) und Ausscheidungsmenge über die Milch ($r=0.940$) zwar hochsignifikant mit der resorbierten Pyrimidinmenge korreliert ist, als Kriterium der ruminalen Eiweißsynthese bleibt zweifelhaft und erfordert weitere Untersuchungen.
5. Orotsäure, Uridin und Pseudouridin sind Pyrimidinverbindungen, die vollständig oder hauptsächlich dem Milchdrüsenstoffwechsel entstammen und somit als Kriterium zur Beurteilung der Stoffwechselaktivität im Euter dienen könnten.

Diese Ergebnisse sind ein weiterer Baustein zur Beurteilung der mikrobiellen Eiweißsynthese im Pansen. Die Verwendung von Milch- und Plasmaproben vermindert den Untersuchungsaufwand. Damit wäre es möglich es relativ einfach Herden-Screenings durchzuführen.

6. Summary

Relations of purine and pyrimidine compounds in milk and plasma of dairy cows.

This paper investigates what pyrimidine and purine compounds respectively and their decomposition products in plasma and milk could be used as criteria for the microbial protein synthesis in the rumen. To this end the quantity of purine and pyrimidine bases absorbed through the small intestine is calculated and compared with the plasma and the secretion quantities in the milk. Besides that it is tested what compounds permit to make a statement about the mammary gland metabolism. The HPLC-technique is employed as analytic method.

Here is the resume of the results:

1. Allantoin is the most promising compound for judging the protein synthesis in the rumen. It shows highly significant correlations with the absorbed quantity of purine bases, both with the absorbed concentration ($r=0.694$) and the secretion quantity in the milk ($r=0.942$).
2. Via the calculation of the overall quantity of secreted allantoin it may be supposed that a part of the absorbed purine compounds is processed in the organism.
3. The uric acid and hypoxanthine quantities secreted via the milk mainly originate from the purine metabolism of the mammary gland.

4. Even though the plasma concentration of cytidine ($r=0.731$) and its secretion quantity in the milk ($r=0.940$) actually show high significant correlation with the absorbed quantity of pyrimidine bases, its suitability as criterion for the ruminal protein synthesis remains doubtful and calls for further investigation.
5. Orotic acid, uridine and pseudouridine are pyrimidine compounds which originate totally or mainly from the mammary gland metabolism and therefore could be used as a criterion for judging the metabolic activity in the udder.

These results serve as another contribution for judging the microbial protein synthesis in the rumen. The use of milk or plasma samples facilitates the investigations. Therefore it would be quite easy to practise herd-screenings.

7. Literaturverzeichnis:

- AHMED, A.; PORTER, G., MCCARTHY, R.; 1978
Isolation, quantification and biosynthetic origin
of orotic acid in milk
J. Dai. Sci.; 61; 39-43
- ALLISON, M.; 1982
Nitrogen requirements of ruminal bacteria
Protein requirements for cattle by Owens, F.;
Stillwater; Oklahoma; p. 128-132
- ANTONIEWICZ, A., HEINEMANN, W., HANKS, E.; 1980
The effect of changes in the intestinal flow of
nucleic acids an allantoin excretion in the urine
of sheep
J. Agric. Sci.; 95; 395-400
- ANTONIEWICZ, A.; HEINEMANN, W.; HANKS, E.; 1983
Effect of level of feed intake and body mass on the
allantoin excretion and the allantoin to creatinine
ratio in the urine of sheep
Nutr. Abs. Rev.; 53B; 275
- ARMSTRONG, D.; HUTTON: K.; 1974
Fate of nitrogenous compounds entering the small
intestine
in: Digestion and Metabolism in the ruminant by
McDonald, W.; Warner, A.; Sydney; Australia; p 432-
447
- BARNARD, E.; 1969
Biological function of pancreatic ribonuclease
Nature; 221; 340-344
- BATES, D.; BERGEN, W.; 1984
Effect of nutrient limitation on the RNA/PROTEIN
ratio of several rumen bacteria
Can. J. Anim. Sci.; 64 (Suppl.I); 45-46

- BERGEN, W.; BATES, D.; JOHNSON, D.; WALLER, J.;
BLACK, J.; 1982
Ruminal microbial protein synthesis and efficiency
in: Protein requirement for cattle; by Owens, F;
Stillwater, Oklahoma; p 99-112
- BHATIA, S.; PRADHAM, K.; SINGH, R.; 1980
Ammonia anabolizing enzymes in cattle and buffalo
fed varied nonprotein nitrogen and carbohydrates
J. Dairy Sci.; 63; 1104-1108
- BICKEL-BAUMANN, C.; LANDIS, J.; 1986
Allantoïnausscheidung im Harn und Gesamtstick-
stoffausscheidung im Kot als Indikatoren für mi-
krobielle Proteinsynthese im Pansen des Wieder-
käuers
Zeitschr. für Tierphys. Tierern. Futtermittelkde.;
56; 275-281
- BIDDLE, G.; EVANS, J.; TROUT, J.; 1975
Labile nitrogen reserves in the ruminant. Metabolic
changes in growing cattle employing a nitrogen
depletion-repletion treatment
J. Nutr.; 105; 1578-1583
- BODA, K.; VARADY, J.; HAVASSY, I.; EGAN, A.; 1986
Nitrogen recycling in ruminants
Arch. Anim. Nutr.; 36(2-3); 149-151
- BRONK, J.; SHAW, M.; 1986
The transport of uric acid across mouse small
intestine in vitro
J. Physiol.; 378; 229-239
- BRONK, J.; HASTEWELL, A.; 1987
The transport of pyrimidines into tissue rings cut
from rat small intestine
J. Physiol.; 382; 475-488

- BROWN, G.; FOX, R.; O'SULLIVAN, W.; 1975
Interconversion of different molecular weight forms
of human erythrocytes ortidylate decarboxylase
J. Biol. Chem.; 250(18); 7352-7358
- CERBULIS, J.; FARRELL, H.; 1977
Xanthin oxidase activity in dairy products
J. Dairy Sci.; 60; 170-176
- CHEN, M.; LARSON, B.; 1971
Pyrimidine synthesis pathway enzymes and orotic
acid in bovine mammary tissue
J. Dairy Sci.; 54(6); 842-846
- CHIHAK, A.; REUTTER, W.; 1980
Orotic acid
MTP Press Limited, Lancaster England
- COELHO DA SILVA, J.; SEELEY, R.; BEEVER, D.; PRESCOTT, J.;
ARMSTRONG, D.; 1972
The effect in sheep of physical form and stage of
growth on the sites of digestion of a dried grass
Br. J. Nutr.; 28; 357-371
- COLEMAN, G.; 1974
The interrelationship between rumen ciliate
protozoa and bacteria
in: Digestion and metabolism in the ruminant by
McDonald, I; Warner, A; Sydney, Australia; p 149-
164
- CONDON, R.; HATFIELD, E.; 1970a
Metabolism of abomasally infused ribonucleic acid
by sheep
J. Anim. Sci.; 31; 1037;

- CONDON; R.; HALL, G.; HATFIELD, E.; 1970b
Metabolism of abomasally infused ^{14}C -labelled
ribonucleic acid, adenine uracil and glycine
J. Anim. Sci.; 31; 1037-1038
- DEMEYER, D.; TAMMINGA, S.; 1986
Microbial protein yield and its prediction
Agriculture: Feed evaluation and protein require-
ment systems for ruminants by Jarrige R., Alderman G
Brüssel
- DLG-FUTTERWERTTABELLEN FÜR WIEDERKÄUER; 1982
DLG - Verlag; Frankfurt/M; 5. Auflage;
- DOCUMENTA Geigy; 1968
Wissenschaftliche Tabellen
Hrsg.: Geigy A.G.; Pharma; Brüssel;
- DUKES, C.; STEPLOCK, D.; KAHN, A.; WEINMANN, E.; 1982
The transport of urate in the small intestine of
the rat
Proc. Soc. Exp. Biol. Med.; 171; 19-23
- DURSCHLAG, R.; ROBINSON, J.; 1980
Species specificity in the metabolic consequences of
orotic acid consumption
J. Nutr.; 110; 822-828
- EHLE, F.; ROBINSON, J.; CLARK, J.; BAUMRUCKER, C.; 1981
Effect of amino acid concentration on orotic acid
production by bovine mammary tissue
J. Dairy Sci.; 64; 2192-2196
- ELLIS, W.; PFANDER, W.; 1965
Rumen microbial polynucleotide synthesis and its
possible role in ruminant nitrogen utilisation
Nature; 205; 974-975

FOX, J.; 1974

Purine ribonucleotide catabolism: clinical and
biochemical significance
Nutr. Metab.; 16; 65-77

FUJIIHARA, T.; ORSKOV, E.; REEDS, P.; KYLE, D.; 1987

The effect of protein infusion on urinary excretion
of purine derivatives in ruminants nourished by
intragastric nutrition
J. Agric. Sci.; 109; 7-12

GATLEY, J.; SHERRATT, S.; 1977

The synthesis of hippurate from benzoate and
glycine by rat liver mitochondria
Biochem. J.; 166; 39-47

GIESECKE, D.; STANGASSINGER, M.; TIEMEYER, W.; 1984

Nucleic acid digestion and urinary purine
metabolism in sheep nourished by intragastric
infusion
Can. J. Anim. Sci.; 64(Suppl.I); 144-145

GRUMMER, M.; LARSON, B.; 1981

Subcellular localisation of pyrimidine synthesis
enzymes in bovine mammary tissue
J. Dairy Sci.; 64; 526-532

JACKSON, T.; SCHELLING, G.; MITCHELL, G.; TUCKER, R.;
1975

Ingesta DNA-RNA in sheep fed purified or natural
diets
J. Anim. Sci.; 41(1); 405

JARASCH, E.; GRUND, CH.; BRUDER, G.; HEID, H.;

KEENAN, T.; FRANKE, W.; 1981

Localisation of xanthin oxidase in mammary gland
epithelium and capillary endothelium
Cell; 25; 67-81

- KAPLAN, V.; POBIRSKY, N.; 1974
 Specifity of purinic metabolism in ruminants
 Sel'skochozjaistvennaja Biologija; 2(1);91-95
- KARLSON, P.; 1980
 Kurzes Lehrbuch der Biochemie
 Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
- KEENAN, T.; DYLEWSKY, D.; 1985
 Aspects of intracellular transit of serum and lipid
 phases of milk
 J. Dairy Sci.; 68; 1025-1040
- KIJORA, C.; SIMON, O.; JACOBI, U.; ROSSOW, N.; BERGNER, H.;
 GORSCH, R.; 1986
 Untersuchungen zum Stickstoffumsatz im Dickdarm des
 Wiederkäuers
 Arch. Anim. Nutr.; 36; 839-850
- KIRCHGESSNER, M.; KREUTZER, M.; 1985
 Harnstoff und Allantoin in der Milch von Kühen
 während und nach Verfütterung zu hoher und zu
 niedriger Proteinmengen
 Zeitschr. Tierphys., Tierern. u. Futtermittelkde.;
54; 141-151
- KÖNIG, S.; SCHELLING, G.; MITCHEL, G.; TUCKER, R.; 1980
 Purine and pyrimidine bases as potential markers of
 microcical protein synthesis
 J. Anim. Sci.; Suppl.I; 25
- KUHN, N.; CARRICK, D.; WILDE, C.; 1980
 Lactose synthesis: the possibilities of regulation
 J. Dairy Sci.; 63; 328-336

- LAURENT; F.; VIGNON, B.; 1983
Veränderungsfaktoren der Allantoinausscheidung bei
Schafen und Ziegen
Arch. Tierern.; 33(9); 671-681
- LENG, R.; GILL, M.; KEMPTON, T.; ROWE, J.; NOLAN, J.;
STACHIW, S.; PRESTON, T.; 1981
Kinetics of large ciliate protozoa in the rumen of
cattle given sugar cane diets
Br. J. Nutr.; 46; 371-384
- LINZELL, J.; PEAKER, M.; 1971
Mechanism of milk secretion
Phys. Rev; 51(3); 564-597
- LÖFFLER, W.; GRÖBNER, W.; MEDINA, R.; ZÖLLNER, N.; 1982
Influence of dietary purines on pool size, turnover
and excretion of uric acid during balance con-
ditions
Res. Exp. med.; 181; 113-123
- MATHER, I.; SULLIVAN, C.; MADARA, P.; 1982
Detection of xanthine oxidase and immunologically
related proteins in fractions from bovine mammary
tissue and milk after electrophoresis in polyamide
gels containing sodium dodecyl sulphate
Biochem. J.; 202; 317-323
- MCALLAN, A.; 1980
The degradation of nucleic acids and the removal of
breakdown products from small intestine of steers
Br. J. Nutr.; 44; 99-112
- MCALLAN, A.; 1982
The fate of nucleic acids in ruminants
Proc. Nutr. Soc.; 41; 309-317
- MCALLAN, A.; SMITH, R.; 1972
Nucleic acids in ruminant digesta as indices of
microbial nitrogen
Proc. Nutr. Soc.; 31; 24A

- MCALLAN, A.; SMITH, R.H.; 1973
 Degradation of nucleic acid in the rumen
 Br. J. Nutr.; 29; 331-345
- MCALLAN, A.; M SIDDONS, R.; BEEVER, D.; 1986
 Nitrogen in the rumen of sheep and cattle
 in Agriculture: Feed evaluation and protein re-
 quirement systems for ruminants by Jarrige, R.;
 Alderman, G.; Brüssel; p.111-128
- MCLEAN, R.; CHENG, K.; COSTERTON, J.; 1984
 Localisation of rumen wall - adherent ureolytic
 bacteria
 Can. J. Anim. Sci.; 64(Suppl.I); 60-61
- MENKE, K; 1973
 Vitaminsynthesen im Pansen
 in Biologie und Biochemie der mikrobiellen
 Verdauung; Giesecke, D.; Henderickx, H.; BLV-
 Verlag, München, Bern, Wien; 235-255
- MOTYL, T., BAREY, W.; LEONTOWICZ, H.; 1986
 The orotic acid concentration in the blood, milk,
 and urine of dairy cows fed with urea supplement
 diet
 Arch. Anim. Nutr.; 36(6); 551-556
- MURRAY, A.; 1971
 The biological significance of purine salvage
 Ann. Rev. Biochem.; 40; 811-826
- NIERLICH, D.; 1978
 Regulation of bacterial growth, RNA and protein
 synthesis
 Ann. Rev. Microbiol.; 32; 393-432

- PRIGGE; H.; PFEFFER, E; 1980
 Beziehungen zwischen der renalen Allantoinaus-
 scheidung und der Infusion verschiedener Substanzen
 in den Labmagen von Hammeln
 Arch. Tierern.; 30(4); 391-396
- RAMSAY, L.; MITCHELL, T.;SHELTON, J.; 1977
 Plasma uric acid and plasma albumin in healthy
 subjects
 Ann. Rheum. Diseases; 36; 374-377
- RAZZAQUE, M.; TOPPS, J.; 1981
 Metabolism of the nucleic acids of rumen bacteria
 by preruminant and ruminant lambs
 Br. J. Nutr.; 45; 517-527
- ROBINSON, J.; LARSON, B.; 1974
 Nucleotide inhibition of post-orotate pyrimidine
 synthesis pathway enzymes of bovine mammary tissue
 J.Dai.Sci.; 57; 1410-1413
- ROHR, K.; LEBZIEN P.; 1986a
 Prediction of NAN flow to the intestines
 in: Agriculture: Feed evaluation and protein re-
 quirement systems for ruminants by Jarrige, R.;
 Alderman, G.; Brüssel; p.145-157
- ROHR, K.;LEBZIEN, P.;SCHAFFT, H.; SCHULZ, E.; 1986b
 Prediction of duodenal flow of non ammonia nitrogen
 and amino acid nitrogen in dairy cows
 Livestock Prod. Sci.; 14; 29-40
- ROOK, J.; 1979
 The role of carbohydrate metabolism in the
 regulation of milk production
 Proc. Nutr. Soc.; 38; 309-314

ROTH, F.; KIRCHGESSNER, M.; 1978

N-Umsatz und Allantoinausscheidung von Schafen bei
Fütterung steigender Mengen Bakterien- bzw. Soja
eiweiß
Zeitschr. für Tierphys. Tierern. Futtermittelkde.;
42; 77-86

ROTH, F.; KIRCHGESSNER, M.; KELLNER, R.; KREUZER, M.;
1986

Allantoinausscheidung von Hammeln bei Variation der
Rohprotein und Energiezufuhr
Arch. Anim. Nutr.; 36; 629-638

SACHS, L.; 1984

Angewandte Statistik
Springer Verlag; Berlin, Heidelberg, New York;
6. Auflage;

SANDER, G.; HELLER-SCHÖCH, G., WIELAND, J.; TOPP, H.,
SCHÖCH, G.; 1984

RNA-catabolites in urine as measure for turn-over
of tRNA, mRNA and rRNA
in: Metabolism and enzymology of nucleic acids
including gene manipulation by Zelnika, J.;
Balan, J.; Bratislava; p. 365-375

SCHARRER, E.; TIEMEYER, W.; AMANN, B.; 1981

Active absorption of hypoxanthine by lamb jejunum
in vitro
Pflüglers Archiv; 391; 41-43

SCHELINE, R.; 1978

Mammalian metabolism of plant xenobiotics
Academic press; London, New York, San Francisco

SCHELLING, G.; KOENIG, S.; JACKSON, T.; 1982

Nucleic acids and purine or pyrimidine bases as
markers for protein synthesis in the rumen
in: Protein requirements for cattle by Owens, F.N.;
p 1-9

- SCHELLING, G.; BYERS, F.; 1984
Cytosine as a marker for microbial nitrogen leaving the rumen
Can. J. Anim. Sci.; 64 (Suppl.I); 52-53
- SCHÖCH, G.; HELLER-SCHÖCH, G.; 1977
Molekularbiologie und klinische Bedeutung des Stoffwechsels normaler und modifizierter Nucleobasen
Schwabe & Co.- Verlag; Basel, Stuttgart
- SCHÖCH, G.; HELLER-SCHÖCH, G.; MÜLLER, J.; HEDDRICH, M. GRÜTTNER, R.; 1982
Determination of RNA-metabolism as indicator of nutritional status
Klin. Pädiatrie; 194; 317-319
- SCHWENDT, G.; 1979
Chromatographische Trennmethoden
Georg Thieme Verlag; Stuttgart
- SIEBER, R.; 1983
Über das Vorkommen der Xanthinoxidase sowie den Einfluß nichttechnischer Verfahren auf die Xanthinoxidase-Aktivität der Kuhmilch - Übersicht
Recherche agronom. en suisse; 22(3-4); 105-1236
- SMITH, R.; 1969
Reviews of the progress of dairy science
Section G: General nitrogen metabolism in the rumen
J. Dairy Res.; 36; 313-331
- SMITH, R.; 1974
Nitrogen metabolism in the rumen and the composition and nutritive value of nitrogen compounds entering the duodenum
in: Digestion and metabolism in the ruminant by McDonald, W.; Warner, A.; Sydney; Australia; p 399-415

SMITH, R.; MCALLAN, A.; 1970

Nucleic acid metabolism in the ruminant: formation of microbial nucleic acid in the rumen in relation to the digestion of food nitrogen, and the fate of dietary nucleic acid

Br. J. Nutr.; 24; 545-556

SMITH, R.; MCALLAN, A.; 1971

Nucleic acid metabolism in the ruminant: amount of nucleic acids and total and ammonia nitrogen in digesta from the rumen, duodenum, and ileum of calves

Br. J. Nutr.; 25; 181-190

SMITH, R.; MCALLAN, A.; HILL, W.; 1968

Nucleic acids in bovine nutrition: Production of microbial nucleic acids in the rumen

Proc. Nutr. Soc.; 27; 48A

STEINHOOR, W.; CLARK, J.; 1982

Microbial nitrogen flow to the small intestine of ruminants

in: Protein requirements for cattle by Owens, F.N.; Stillwater; Oklahoma; p 166-181

STOHRER, M.; 1987

Untersuchung über den Einfluß der Milchleistung auf den Pyrimidin- und Purinstoffwechsel der Rindermilchdrüse

Dissertation; LMU München

TARAKANOW, B.; SOMMER, A.; VOIGT, J.; 1984

Untersuchungen zum Einfluß des Gehaltes an pflanzlichem Rohprotein in der Ration auf die Verwertung von Harnstoff bei Milchkühen

Arch. f. Tierern.; 34; 397-408

- TIEMEYER, W.; GIESECKE; D.; 1982
Quantitative determination of allantoin in biological fluids by reversed-phase high-pressure liquid chromatography
Anal. Biochem; 123; 11-13
- TIEMEYER, W.; STOHRER, M.; GIESECKE, D.; 1984
Metabolites of nucleic acids in bovine milk
J. Dairy Sci.; 67; 723-728
- TOPPS, J.; ELLIOT, R.; 1965
Relationship between concentration of ruminal nucleic acids and excretion of purine derivatives by sheep
Nature; 205; 498-499
- TOPPS, J.; ELLIOTT, R.; 1967
Partition of nitrogen in the urine of african sheep given a variety of low-protein diets
Anim. Prod.; 9; 219
- TURCHINSKII, V.; 1981
Entry of microbial nucleic acids into the abomasum and excretion of allantoin in sheep
Nutr. Abs. Rev.; 51B(10); 686
- ULYATT, M.; DELLOW, D.; REID, C.; BAUCHOP; T.; 1974
Structure and function of the large intestine of ruminants
in: Digestion and metabolism of the ruminants by McDonald, I; Warner, A; Sydney, Australia; p 119-133
- USHIDA, K.; JOUANY, J.; LASSALES; B.; THIVEND, P.; 1984
Protozoal contribution to nitrogen digestion in sheep
Can. J. Anim. Sci.; 64(Suppl.I); 20-21

- USHIDA, K.; JOUANY, J.; THIVEND, P.; 1986
Role of rumen protozoa in nitrogen digestion in
sheep given two isonitrogenous diets
Br. J. Nutr.; 56; 407-419
- VERCOE, J.; M 1976
Urinary allantoin excretion and digestible dry
matter intake in cattle and buffalo
J. Agri. Sci.; 86; 613-615
- WATTS, R.; 1981
Purine metabolism
Biochem. Soc. Transact.; 9; 3-5
- ZÖLLNER, N.; 1982
Purine and pyrimidine metabolism
Proc. Nutr. Soc.; 41; 329-342

D A N K S A G U N G

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof.Dr.D.Giesecke für die Überlassung des Themas und die stets gern gewährte Hilfe.

Herrn Dr.M.Stohrer danke ich für die Einarbeitung in die HPLC-Technik.

Herrn Dr.N.Sandner möchte ich besonders für die nette Zusammenarbeit und die Einführung in die Arbeit mit Computern danken.

Für viele hilfreiche Hinweise hinsichtlich der Laborarbeit und die gute Zusammenarbeit möchte ich mich bei Frau S.Wiesmayr bedanken.

Bei meinen Kollegen Herrn A.Karg und Herrn S.Reuß bedanke ich mich für die Hilfe bei der Probenentnahme.

L E B E N S L A U F

Name: Regina Roßkopf

Geburtsdatum: 22.07.1962

Geburtsort: Neuburg an der Donau

Eltern: Rudolf Roßkopf, Kaufmann
Emmi Roßkopf, geb. Bernecker

Schul Ausbildung: 1968 - 1972 Grundschule in Bertoldsheim
1972 - 1981 Descartes-Gymnasium in Neuburg an der Donau

Abitur: Juni 1981

Universitätsaus-: 1981 - 1986 Studium der Tiermedizin
bildung an der LMU München

Approbation: April 1988

Promotion: Nov. 1986 - Nov. 1988 am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Berufstätigkeit: Aug. 1987 bis Jan. 1989 wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

